FACULTÉ DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1968

THÈSE

N° 130

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Monique THUILLIER-GRISON

Née le 4 Juillet 1937, à CREIL (Oise)

Présentée et soutenue publiquement le

ESSAI SUR LES TRANSPLANTATIONS DE MOELLE OSSEUSE

Président : Monsieur Robert ANDRÉ (Professeur)

DACTYLO-SORBONNE
8, Rue Casimir-Delavigne
PARIS-VI°
1968

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Année 1968 N°

T H E S E

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Monique THUILLIER-GRISON

Née le 4 juillet 1937 à Creil (Oise)

-:-

Présentée et soutenue publiquement le

-:-

ESSAI SUR LES TRANSPLANTATIONS DE MOELLE OSSEUSE

-:-

Président : Monsieur Robert ANDRE (Professeur)

-:-

DACTYLO-SORBONNE
8, rue Casimir Delavigne
PARIS - 6e
1968

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538115_0046

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. ALAJOUANINE (T), BENARD (H), BERNARD (E), BINET (L), BULLIARD (H), CATHALA (J), CHABROL (E), CHAILLEY-BERT (P), CHEYMOL (J), DEBRE (R), FEY (B), GALLIARD (H), GAUDART d'ALLAINES (F.de), GENNES (L.de), GIROUD (A), HAZARD (R), HEUYER (G), LAROCHE (G), LAVIER (G), LELONG (M), LEVY (Mlle J), LEVY-SOLAL (E), LIAN (C), MARCHAL (G), MATHIEU (P), MONOD (R), MOREAU (R), MOULONGUET (P), PASTEUR VALLERY-RADOT, PETIT-DUTAILLIS (D), PIEDELIEVRE (R), QUENU (J), RENARD (G), SENEQUE (J), STROHL (A), TANON (L), VERNE (J).

DOYEN ..... Georges BROUET

1er assesseur ..... Daniel BARGETON
2e assesseur ..... Jean GOSSET

I - PROFESSEURS

I°- CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires

	MM.
Anatomie	DELMAS (A) HUARD (P)
Anatomie et cytologie pathologiques	DELARUE (J)
Anesthésiologie	VOURC'H (G)
Bactériologie et virologie	TOURNIER (P)
Biochimie médicale	JAYLE (M.F) POLONOVSKI (J) DESGREZ (P)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	MALMEJAC (J)
Biologie médicale	FAUVERT (R)
Biophysique médicale	BUGNARD (L) DOGNON (A) DJOURNO (A)
Cancérologie expérimentale	MATHE (G)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	COURY (Ch.)
Histologie et Embryologie	TUCHMANN-DUPLESSIS (H) COUJARD (R)

	MM.
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J)
Médecine du travail	DESOILLE (H)
Médecine légale, Droit médical et déontologie	DEROBERT (L)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R)
Parasitologie	N...
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G) KUSS (R) VERNE (J.M)
Pathologie exotique	BRUMPT (L.C)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.P)
Pathologie médicale	LAROCHE (Cl) BRICAIRE(H) PEQUIGNOT(H)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J)
Pathologie et thérapeutique générales	MAURICE (P)
Pharmacologie	BOISSIER (JR) LECHAT (P)
Physiologie	BARGETON (D) PARROT (J)
Physiologie et pathologie obstétricales	LEPAGE (F)
Radiologie médicale	DESGREZ (H)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	N...
Thérapeutique	LAMOTTE (M)
Thérapeutique appliquée	N...

b) Professeurs à titre personnel

Anatomie	CABROL (Ch)
Anatomie anthropologique	OLIVIER (G)
Anatomie pathologique	NEZELOF (Ch)
Bactériologie	BARBIER (P)
Biochimie médicale	DREYFUS(J.Cl)
Biologie médicale	BOURLIERE (F)
Parasitologie	LARIVIERE (M)
Pathologie expérimentale	LOEPER (J)
Physiologie	DEJOURS (P) SCHERRER (J)

MM.

Physique médicale	KELLERSHOHN (L) GOUGEROT (L) ROUCAYROL (J.Cl) TUBIANA (M)
Radiologie médicale	FISCHGOLD (H)

2°- CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires

Clinique carcinologique	DENOIX P.
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)	REDON (H)
Clinique cardiologique (Broussais)	SOULIE (P)
- - (Boucicaut)	LENEGRE (J)
Cliniques chirurgicales Beaujon	LORTAT-JACOB (JL)
-	BAUMANN (J)
Cochin	LEGER (L)
Hôtel-Dieu	PATEL (J)
St-Antoine	GOSSET (J)
Salpêtrière	SICARD (A)
Tenon	OLIVIER (Cl)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)	MERLE d'AUBIGNE (R)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Foch)	PADOVANI (P)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Beaujon)	CAUCHOIX (J)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)	FEVRE (M)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)	DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie thoracique (Laënnec)	MATHEY (J)
Clinique dermatologique (Saint-Louis)	DUPERRAT (F)
Clinique endocrinologique (Pitié)	DECOURT (J)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)	LAMY (M)
Clinique chirurgicale et gynécologique (Broca)	HUGUIER (J)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (St-Louis)	DEGOS (R)

	MM.
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)	TURPIN (R)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)	MOLLARET (P)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)	DELAY (J)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	BERNARD (J)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	CASTAIGNE(P)
Cliniques médicales — Bicêtre	DEPARIS (M)
Cliniques médicales — Broussais	MILLIEZ (P)
Cliniques médicales — Cochin	N...
Cliniques médicales — Hôtel-Dieu	BARIETY (M)
Cliniques médicales — Pitié	DREYFUS (G)
Cliniques médicales — Saint-Antoine	CONTE (M)
Cliniques médicales — Saint-Antoine	KOURILSKY(R)
Cliniques médicales — Saint-Antoine	BOUDIN (G)
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)	DEBRAY (Ch)
Clinique médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	JUSTIN-BESANÇON(L)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies métaboliques (Hôtel-Dieu)	DEROT (M)
Clinique néphrologique (Necker)	HAMBURGER(J)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN(R)
Cliniques obstétricales — Baudelocque	LACOMME (M)
Cliniques obstétricales — Saint-Antoine	MERGER (R)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	VARANGOT (J)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	OFFRET (G)
- - (Cochin)	BREGEAT (P)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	AUBRY (M)
Clinique de pédiatrie (Trousseau)	MOZZICONACCI(P)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (St-Vincent-de-Paul)	THIEFFRY (S)

	MM.
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laënnec)	BROUET (G)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	MICHAUX(L)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	COSTE (F)
Clinique de rhumatologie (Lariboisière)	SEZE (S.de)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)	DECHAUME (M)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	ROUX (M)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	LEMAIRE (A)
Clinique toxicologique (F.Widal)	GAULTIER (M)
Clinique traumatologique et orthopédique (R.Poincaré)	JUDET (R)
Clinique urologique (Cochin)	ABOULKER(P)
- - (Necker)	COUVELAIRE(R)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	LAPLANE (R)
Séméiologie médicale (A.Chantin)	DOMART (A)
- - (Lariboisière)	BOUVRAIN(Y)
- - (Pitié)	RAMBERT (P)
- - (Rothschild)	WOLFROMM(R)
Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais)	POILLEUX(F)

b) Professeurs à titre personnel

Hématologie	ANDRE (R) BOUSSER (J)
Hydrologie et climatologie	GIBERTON (A)
Maladies infectieuses	BASTIN (R)
Médecine	AZERAD (E) BOUR (H) CAROLI (J) DREYFUS (B) GROSSIORD(A) LAMBLING(A) LAUNAY (Cl) PAYET (M) PERRAULT(M) SIGUIER (F) WORMS (R)
Néphrologie	RICHET (G)

	MM.
Neuro-chirurgie	Le BEAU (J)
Neurologie	LHERMITTE (F)
Neuro-psychiatrie	PICHOT (P)
Oto-Rhino-Laryngologie	MADURO (R)
Pédiatrie	POLONOVSKI(Cl) ROYER (P)
Pneumo-Phtisiologie	KREIS (B) MEYER (A)
Rhumatologie	DELBARRE (F)

II - PROFESSEURS SANS CHAIRE

Anatomie pathologique	GOUYGOU (Ch)
Bactériologie	CHRISTOL (D)
Biochimie médicale	CARTIER (P) GONNARD (P) NORDMANN (J)
Biologie médicale	HARTMANN (L)
Chirurgie	CERBONNET (G)
Hématologie	BILSKI- PASQUIER(G)
Maladies infectieuses	DUPONT (V)
Neuro-psychiatrie	TARDIEU (G)
Pédiatrie	ROSSIER (A)
Physique médicale	COURSAGET(J) GREMY (F)
Physiologie	GIRARD (Fr)
Stomatologie	CHAPUT(Mme A)

III - PROFESSEURS DETACHES DANS LES UNIVERSITES ETRANGERES

Bactériologie	HAUDUROY(P) Pr.s.ch.
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J) Pr.s.ch.

IV - PROFESSEURS ASSOCIES

Hormonologie	MORICARD (R)
Statistique médicale et épidémiologique	SCHWARTZ (D)

Secrétaire général de la Faculté	M.LENA (J)
Conseiller administratif	Mlle CHAINTREUIL (G)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	M.le Docteur HAHN(A)
Conservateurs	Mlles DUMAITRE (P), LAURENT (H),Le NOIR (G)
Bibliothécaires	Mmes CONTET (J), FORGET (F),Mlles DUROZOY (M.F.), ROBERGE (D), Dr. SCHILLER (J)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

-:-

A mon père

A mon mère

A mon mari

En témoignage de ma profonde
affection

A toute ma famille

A tous mes amis

A Monsieur le Professeur Robert ANDRE

Professeur à la Faculté de Médecine de Paris

Chevalier de la Légion d'Honneur

Qui m'a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse

Avec ma respectueuse reconnaissance

A Monsieur le Docteur TURKEL

Médecin-chef du service des Prélèvements
du Centre Départemental de Transfusion
Sanguine de Paris

Hémobiologiste des Hôpitaux de Paris

Avec l'expression de ma
gratitude respectueuse

A mes Maîtres des Hôpitaux

et à tous mes collègues

ESSAI SUR LES TRANSPLANTATIONS

DE MOELLE OSSEUSE

-:-

- I -

INTRODUCTION

-:-

La question des greffes en général, des transplantations de moelle osseuse en particulier, bien que d'apparition récente, a déjà suscité un nombre important de travaux expérimentaux et cliniques. Les difficultés rencontrées proviennent de ce que des domaines très différents doivent être abordés pour la mise au point, la réalisation, les indications et les résultats de ces techniques.

Il n'en reste pas moins que déjà se dessinent avec netteté les contours de cette nouvelle discipline thérapeutique dont le clinicien doit connaître ressources et utilisation, alors même que seuls des spécialistes hautement qualifiés sont en mesure de faire bénéficier certains malades des transplantations de moelle osseuse.

Ensivageant un si vaste problème, nous en mesurons la haute technicité, et c'est sous l'angle de la thérapeutique que nous nous proposons de l'aborder.

Mais pour comprendre le mode d'action, les indications les résultats et aussi la raison des échecs de cette méthode il est bien évident que devront être reprises les bases mêmes de la transplantation de cellules hémopoiétiques d'origine médullaire : aspects immunologiques et aussi immunogénétiques. Les techniques, mises au point expé-

rimentalement chez l'animal, seront rappelées : conditionnement du receveur, sélection des donneurs, recueil et injection de la moelle, isolement du receveur en milieu stérile.

Il nous faudra alors envisager les indications des transfusions de moelle osseuse, traitement de remplacement dans les états d'insuffisance myéloïde, aplasie, hypoplasie post-médicamenteuse, anémies, irradiations accidentelles ; traitement aussi de certains états néoplasiques, tumeurs malignes, leucoses. Les causes d'échec enfin sont dominées par l'apparition de ce curieux syndrome secondaire, que les méthodes actuelles s'efforcent d'éviter.

o

C'est donc une modeste mise au point d'une méthode qui représente l'aboutissement de recherches scientifiques biologiques et cliniques tout à la fois, que nous entreprenons ici. Dans le cas particulier de la greffe de cellules hématopoiétiques, on se heurte donc aux difficultés qui rendent sa réussite rare, puisque les éléments transplantés doivent proliférer, ce qui nécessite l'inhibition des défenses immunitaires ; aux complications qui suivent la transplantation, du fait de l'apparition du syndrome immunologique, dit secondaire, expression de la réaction du greffon contre l'hôte ; mais aussi, on se trouve devant des possibilités d'utilisation qui débordent largement le cadre du simple remplacement dans des insuffisances myéloïdes.

Les transplantations de moelle osseuse ne

datent encore que de huit ou neuf années. Si en effet les transfusions sanguines avaient déjà posé la plupart des problèmes immunologiques responsables, comme B. ANDRE, DREYFUS et SALMON l'avaient si bien exposé en 1956, avec les transfusions de cellules hématopoiétiques, le but poursuivi était tout autre et combien plus difficile à atteindre. En 1959, G. MATHE et ses collaborateurs décrivaient l'expérience clinique princeps qui fut le départ de toute une série d'essais : des biologistes atomiciens yougoslaves accidentellement irradiés à haute dose, furent sauvés d'une mort certaine par les transfusions sanguines et les greffes de moelle osseuse homologue. E.D. THOMAS, la même année 1959, montrait qu'une transplantation de moelle osseuse isologue n'avait des chances de réussir qu'après l'irradiation subléthale de l'organisme. Mais dès 1959 également, G. MATHE, J. BERNARD et leurs collaborateurs publiaient les essais de traitement qu'ils avaient entrepris chez des sujets atteints de leucémie aiguë en rémission : cette fois, on réalisait une irradiation totale intensive, suivie de transfusions de moelle osseuse homologue. Ces auteurs décrivaient toujours en 1959, leur technique de transfusion de moelle osseuse chez l'homme.

Au cours de l'année 1960, les recherches se poursuivirent, se multiplièrent. G. MATHE, J. BERNARD et leur équipe avaient à nouveau tenté des greffes de moelle osseuse homologue après irradiation totale, chez des enfants atteints de leucémie aiguë en rémission; mais le fait nouveau était la description du syndrome secondaire chez l'homme. Chez les Anglo-Saxons également cette année 1960 devait être fructueuse : BEILBY et CADE obtenaient une survie prolongée d'une greffe

de moelle osseuse avec apparition d'un groupe sanguin nouveau : c'est le "chimérisme". BRIDGES et EDELSTYN ont traité une insuffisance médullaire toxique par une greffe homologue de tissu hémopoiétique foetal ; MANNICK enfin décrit les autogreffes de moelle osseuse chez le Chien ayant subi une irradiation totale léthale ; mais STOLOFF s'attache surtout à étudier la production d'anticorps lors de la transplantation médullaire.

L'année 1961 a apporté un certain nombre d'observations cliniques illustrant les indications et les possibilités de la méthode. THOMAS a réussi à rétablir la fonction médullaire après greffe autogène ; SCOTT a traité un cas d'anémie hypoplasique par la transfusion de cellules hématopoiétiques foetales ; dans le cas de ROBINS et NOYES, c'est une anémie aplastique qui a été traitée dans des conditions privilégiées et rarement réalisables par une transfusion de moelle osseuse provenant du jumeau univitellin du malade ; anémie hypoplasique également que le cas de MAC FARLAND, traité par la transplantation de moelle osseuse. Enfin CLIFFORD et collaborateurs pensent associer, dans le traitement des hémopathies malignes, la moutarde azotée et la transfusion de moelle osseuse autologue.

En 1962, G. MATHE et J.L. AMIEL publiaient un important travail consacré à la greffe, sous ses divers aspects biologiques et cliniques, les problèmes qu'elle pose, les moyens de les résoudre dans un certain nombre de cas. Mais la greffe de moelle osseuse devait la même année retenir plus particulièrement l'attention de ces auteurs et de leur équipe. Ils montrèrent entre autre que la

protection des animaux irradiés varie selon le nombre de cellules de moelle osseuse allogénique transfusées. J. ESPIE la même année consacrait sa thèse soutenue à Paris aux transfusions et greffes de moelle osseuse, réalisant ainsi une mise au point de l'état actuel (1962) de la question. PEGG procédait toujours en 1962 à une étude quantitative de la greffe de moelle osseuse et en tirait des déductions pour la transfusion médullaire en clinique humaine. Dans les aplasies médullaires graves, KURNICK a eu recours aux transfusions de moelle osseuse autologue et isologue conservée, tandis que FERNBACH et TRENTIN pouvaient réaliser la transplantation médullo-osseuse dans les conditions optima, une anémie aplasique ayant frappé l'un des jumeaux d'une paire univitelline : donc réalisation de greffe de moelle isologue, écartant au moins théoriquement les risques de syndrome secondaire et de chimérisme.

L'année 1963 nous apporte de très importants travaux : d'abord ceux de MATHE, AMIEL, CATTAN et collaborateurs sur la physiopathologie du syndrome secondaire, complication majeure de la greffe de cellules hémopoiétiques, et sur les moyens de le contrôler ; ceux des mêmes auteurs, consacrés au chimérisme hématopoiétique observé chez l'homme ayant reçu une transplantation de moelle osseuse allogénique ; chimérisme entraînant une tolérance spécifique, permettant le contrôle du redoutable syndrome secondaire.

OLMER et collaborateurs ont eu recours à une greffe de moelle osseuse pour traiter une agranulocytose extrêmement grave provenant d'un traitement épileptique. Et tandis qu'en Allemagne S. WITTE consacre une mono-

graphie à la transfusion de moelle osseuse, E.D. THOMAS publie les résultats de ses recherches expérimentales sur les transplantations de moelle osseuse chez des Chiens ayant reçu une dose léthale de rayons X ; le méthotrexate ayant eu des effets heureux sur la survie et du receveur, et du greffon homologue. LOCHTE chez la Souris et chez le Chien, utilise non pas l'irradiation, mais le thio-TEPA pour préparer l'organisme receveur à la transfusion de moelle osseuse.

L'année 1964 voit la poursuite de la publication des travaux de G. MATHE, J.L.AMIEL et collaborateurs :
tout d'abord une nouvelle étude sur les réactions immunologiques de greffe ;
ensuite, plus particulièrement, un exposé de l'état actuel (1964) des greffes de cellules hématopoiétiques et de leurs indications cliniques ;
enfin, publié en Grande-Bretagne, un travail sur le retour de la fonction hémopoiétique chez les Souris irradiées, puis ayant reçu des transplantations de moelle osseuse allogène ;
mais le fait nouveau, qui devait apporter une sensible amélioration à la technique et à ses résultats, a été que la moelle osseuse transplantée provenait de plusieurs donneurs appartenant à des souches différentes.

Aux Etats-Unis également l'année 1964 devait être fructueuse dans le domaine qui nous occupe :

recherches expérimentales de E.D. THOMAS qui précisent la leucocinétique de Chiens ayant reçu des doses subléthales de rayons X, les uns sans greffe, les autres ayant reçu des transplantations de moelle osseuse ;

retour de l'activité médullaire après une aplasie totale, retour provoqué par la transfusion de moelle isogénique ;
enfin, résultats cliniques cette fois, d'une transplantation de moelle osseuse provenant du jumeau univitellin du malade. A cette date, juin 1964, THOMAS faisait état de cinq observations, dont la sienne, dans lesquelles une aplasie myéloïde, de cause inconnue dans trois cas, par intoxication médicamenteuse dans deux cas, avait été traitée par transplantation de moelle osseuse isogénique;

le cas de FERNBACH et TRENTIN (1962) concernant un petit garçon de 3 ans, présentant une sidération médullaire attribuable au chloramphénicol et aux sulfamides, et remontant à quatre mois, lors de la première administration de moelle ; une seconde transfusion fut pratiquée, avec actuellement, quatre ans plus tard, une leucopénie légère et une thrombocytopénie importante ;

le cas de TOCANTINS et Mac KENNA, non publié, concernant un garçon de 15 ans présentant une aplasie médullaire cryptogénétique, traitée au bout d'un mois par une transplantation de moelle osseuse, avec un traitement médical de prednisone et testostérone, sans résultat, la mort survenant un mois plus tard ;

le cas de ROBINS et NOYES (1961) concernant une petite fille de 7 ans, atteinte à la suite d'un traitement par médicament anticonvulsivant d'une aplasie médullaire traitée trois semaines plus tard par une transplantation de moelle osseuse avec survie en parfait état vérifié trois ans et demi plus tard ;

le cas de MILLS et KYLE (1964) concernant

une fille de 9 ans chez qui l'aplasie médullaire paraissait sans cause décelable. Deux ans et demi plus tard, une transplantation de moelle isogène a été faite avec succès, l'enfant étant en bon état six mois plus tard ;

le cas enfin de THOMAS, concernant une fille de 9 ans atteinte de sidération myéloïde cryptogénétique, traitée sept mois plus tard par la transplantation de moelle osseuse, avec de bons résultats se maintenant depuis 18 mois.

G. MATHE et ses collaborateurs, en 1965, font paraître un ouvrage consacré à l'aplasie myélo-lymphoïde de l'irradiation totale; ces auteurs montrent les espoirs apportés par la greffe de moelle osseuse dans le traitement des leucémies et par ailleurs ils reprennent la description des divers aspects du syndrome secondaire compliquant les transfusions de moelle osseuse ou de leucocytes allogéniques chez les sujets atteints d'hémopathies malignes. Une nouvelle indication des transplantations de moelle osseuse se dégage donc des travaux expérimentaux et cliniques.

Les publications de 1966 confirment les progrès réalisés. D.E. PEGG consacre une importante monographie aux transplantations de moelle osseuse. SCHWARZENBERG, CATTAN, SCHNEIDER, SCHLUMBERGER, AMIEL et G. MATHE sous le terme heureux de "réanimation hématologique", envisagent l'ensemble des problèmes concernant les greffes, et consacrent un long développement à la greffe de moelle osseuse, susceptible de corriger les désordres graves des leucocytes et des immunoglobulines. Ces mêmes auteurs, toujours en

1966, montrent comment la chimiothérapie anticancéreuse intensive peut s'associer aux transfusions de moelle osseuse autologue, le receveur étant isolé à l'abri de tout germe pathogène dans une chambre appropriée.

REDON, DUPAS, FASANO, SINGIER et NATAF ont eux aussi recours à la chimiothérapie intensive, mais régionale seulement, pour lutter contre certains cancers, sous la protection de transfusion de moelle osseuse autologue. Enfin aux Etats Unis, F.S. ROSEN pense que les transfusions de cellules médullaires doivent pouvoir trouver une indication nouvelle : le traitement de l'alymphocytose, dit "type suisse de l'agammaglobulinémie".

On voit donc tout le chemin parcouru en l'espace de moins de dix années ; mais les essais n'aboutissent pas tous au succès, cela à la fois du fait de l'extrême gravité des affections traitées et des difficultés d'une réussite de la greffe qui, pour être efficace, doit devenir fonctionnelle alors que tout se conjugue pour l'expulser ou, au moins, la rendre inactive.

Avant d'envisager les délicates techniques par lesquelles ces transplantations de moelle osseuse ont quelque chance de réussir, il nous faut étudier les aspects immunologiques et immunogénétiques qui montreront les obstacles biologiques, naturels, l'organisme receveur considérant à bon droit la greffe comme un corps étranger à rejeter ou, au moins à neutraliser.

Il faut donc avant tout bien connaître ces défenses de l'organisme, afin de les suppri-

mer, dans la limite toutefois où la survie sera encore possible. Problème aussi hardi que délicat, mais pour lequel déjà des techniques efficaces ont été mises au point.

-:-

- II -
ASPECTS IMMUNOLOGIQUES

-:-

Parmi les multiples mécanismes de défense qui protègent l'intégrité de l'organisme, les facteurs immunologiques et surtout immunogénétiques, jouent un rôle essentiel et sont les grands responsables des échecs des greffes.

En effet, pour qu'une greffe soit acceptée, il faut qu'aucune barrière immunologique ne s'interpose entre le matériel fourni par le donneur, et l'organisme receveur, l'hôte. Pour cela, il s'agirait d'établir un choix tel que donneur et receveur soient de même origine génétique : la greffe sera alors isogénique. Ce qui n'est actuellement réalisable que dans les cas, privilégiés et rarissimes, où le malade traité a un jumeau univitellin ...

Dans les autres cas, greffon et hôte sont différents génétiquement, et la greffe est incompatible. C'est ce qui se produit lorsqu'on utilise des greffes homologues ou allogéniques, donneur et receveur étant de même espèce, mais de lignées différentes ; et à fortiori lorsqu'on utilise des greffes hétérologues, ou hétérospécifiques, pour lesquelles le donneur et le receveur sont d'espèces différentes.

Qu'il s'agisse de greffes homologues, ou

de greffes hétérologues, le greffon va posséder des antigènes qui sont différents de ceux du receveur ; celui-ci va alors s'immuniser contre les antigènes du donneur, et parfois même, dans le cas de transplantations de moelle osseuse, que nous avons en vue ici, le greffon est susceptible de s'immuniser contre les antigènes du receveur. L'ensemble de ces réactions immunitaires représente l'obstacle décisif qui s'oppose à la réussite de la greffe incompatible. Tous les efforts ont été déployés pour que ces réactions n'aient pas lieu, ou n'entraînent pas d'effets nocifs pour la transplantation et pour l'hôte.

Deux ordres de facteurs interviennent dans les réactions immunologiques et immunogénétiques de greffe :

les facteurs génétiques proprement dits,
les antigènes et anticorps de greffe.

Facteurs génétiques

Il ne se produira pas de barrière immunologique à la transplantation si donneur et receveur sont de même origine génétique, s'ils sont isogéniques.

Les facteurs génétiques ont été d'abord mis en évidence lors de recherches expérimentales, au cours desquelles on a tenté de greffer une tumeur entre animaux de même espèce ou entre animaux d'espèces différentes. Mais ces études n'ont commencé à être significatives qu'à partir du moment où l'on a pu disposer de lignées pures de Souris obtenues par croisements répétés entre frères et soeurs : on réalisait ainsi artificiellement sur le plan génétique ce que la nature offre spontanément avec les jumeaux monozygotes.

Les lignées de Souris obtenues par croisements répétés entre frères et soeurs aboutissent en effet à des animaux homozygotes pour tous les gènes, et donc génétiquement identiques entre eux. Une fois établie, cette identité génétique se transmet de génération à génération (G. MATHE).

Ainsi se sont dégagées les lois empiriques dites Lois de SNELL (1953) :

"a) les greffes isogéniques, entre individus de la même lignée, ou entre jumeaux monozygotes, prennent toujours ; les greffes allogéniques finissent toujours par être rejetées ;

b) le croisement de deux lignées A et B donne des hybrides de première génération, dites hybrides F_1 (A x B) (F pour filius) ; les greffes issues d'une des lignées parentales prennent chez les hybrides, alors que les greffes de ces hybrides sont rejetées par les lignées parentales ; si l'on croise les hybrides de la première génération F_1 pour obtenir des hybrides de la deuxième génération F_2 , les tumeurs issues des lignées parentales A ou B ne prennent que dans une fraction seulement de la population F_2".

C'est l'interprétation de ces lois empiriques qui a fourni la base même de l'immunogénétique des greffes. En effet :
si l'on utilise un greffon incompatible, il y a rejet de celui-ci par le receveur : ce qui s'explique par la réponse immunologique de l'hôte vis-à-vis des antigènes du greffon que lui-même ne possède pas, antigènes qui sont conditionnés par des gènes d'histocompatibilité. Chez la première génération

F_1 comme chez les lignées parentales, ces gènes s'expriment de la même façon, c'est-à-dire qu'en cas d'individu hétérozygote, l'expression génique est aussi forte qu'en cas d'individu monozygote. Ces gènes doivent donc être considérés comme dominants. Chez les individus de deuxième génération F_2, la ségrégation de ces gènes dominants autorise encore la prise de certaines greffes de tissus provenant d'une des lignées parentales. Ces gènes sont donc en nombre limité : on les a estimés à 15 chez la Souris.

Autre complexité, tous ces gènes d'histocompatibilité n'ont ni la même importance, ni surtout le même type d'expression phénotypique. C'est ainsi qu'il a été démontré que chez la Souris, l'un de ces gènes, dit H-2, s'exprime de façon beaucoup plus intense que les autres. "Pour certaines tumeurs à croissance assez rapide, il suffit qu'il y ait concordance entre receveur et greffon au locus H-2 pour que la croissance du greffon soit continue jusqu'à la mort de l'hôte" (G. MATHE).

En outre, le gène H-2 de la Souris ne s'exprime pas seulement par des antigènes d'histocompatibilité, mais aussi par un antigène qui provoque l'apparition d'anticorps sériques : c'est l'hémagglutinogène. Ainsi, deux types d'antigènes l'un qui provoque l'apparition d'anticorps hémagglutinants, l'autre qui entraîne le rejet immunologique de greffons incompatibles, ces deux types n'en ont pas moins une origine génétique commune. Ainsi est posé le problème des rapports existant entre les antigènes qui conditionnent le rejet des greffes, les antigènes T (la lettre T désignant

transplantation) selon l'expression de MEDAWAR, et les antigènes H (la lettre H désignant humoral) et qui suscitent les antigènes sériques, toujours selon MEDAWAR (1956-1957).

En affinant les analyses génétiques, on est arrivé à établir que H-2 ne représentait pas un seul locus, mais toute une région chromosomique comportant plusieurs locus rapprochés, pourtant séparables par crossing-over : en H-2 on connaît actuellement 18 allèles, allant de H-2a à H-2s. De même dans les gènes d'histocompatibilité plus faible, il a été possible d'isoler des gènes H-1, H-3, H-4 et un gène d'histocompatibilité lié au sexe et porté par le chromosome Y.

Sur le plan pratique, ces constatations montrent que les transplantations de moelle osseuse allogène ont peu de chance de réussir, puisque le receveur conserve un système immunitaire intact de défense vis-à-vis de greffons étrangers. On a donc d'abord cherché à supprimer ces défenses, par la splénectomie, par les stéroïdes, sans améliorer les résultats. D'autres substances immunosuppressives ont paru plus efficaces, en combattant les antigènes d'histocompatibilité de la moelle du donneur et du receveur ; naturellement une moelle isogène ne soulève aucune de ces difficultés.

Antigènes et anticorps de greffe

Ils représentent le second groupe d'éléments responsables des échecs des transplantations homologues ou hétérologues. On ne peut définir les antigènes de greffe - comme les autres antigènes d'ailleurs - que sur un plan biologique. Les antigènes de greffe provoquent une réaction immunitaire,

par laquelle un premier greffon incompatible est rejeté en une douzaine de jours ; ces antigènes sont encore responsables d'une réaction immunitaire dite hyperimmunisation, qui provoque à nouveau le rejet d'un second greffon incompatible identique, mais cette fois plus rapidement, en six ou huit jours. Pour étudier les antigènes de greffe , on dispose donc d'un test biologique qui est essentiellement celui de la pré-immunisation.

Toutes les cellules nucléées de l'organisme sont porteuses des mêmes antigènes d'histocompatibilité, mais pour certains, les globules rouges non nuclées en sont dépourvus. Il a été ainsi constaté qu'un premier greffon de peau réalise chez le receveur une pré-immunisation vis-à-vis d'une transplantation de rein du même donneur, alors que des globules rouges du futur donneur ne pré-immunisent pas contre une greffe de peau, ou une transplantation de rein. On aurait cependant observé des exceptions, des greffons de cellules hématopoiétiques, tumorales, ou normales, paraissant sensibles aux anticorps sériques induits par des injections préalables d'hématies du même donneur incompatible. Quel que soit leur type, ces cellules nucléées possèdent toutes, en commun, des antigènes d'histocompatibilité, comme l'ont établi les pré-immunisations.

Non seulement les antigènes, mais aussi les gènes d'histocompatibilité paraissent bien être communs à toutes les cellules nucléées. C'est ce que BILLINGHAM et BRENT, en collaboration avec MEDAWAR (1953) ont pu démontrer en induisant une tolérance immunologique activement acquise : un Souriceau

nouveau-né, à l'introduction d'une quantité relativement forte d'un antigène étranger, va répondre non pas par une immunisation, non pas même par l'absence de toute réaction, mais par l'induction d'une tolérance ; devenu adulte, l'animal sera incapable de s'immuniser contre ce même antigène s'il a par la suite l'occasion de le rencontrer. Ainsi, l'injection de cellules nucléées à un receveur pendant sa vie embryonnaire ou dans les jours qui suivent immédiatement sa naissance lui assurera une tolérance pour la greffe de n'importe quel autre tissu, à condition qu'il provienne du même donneur. "La spécificité de greffe est une spécificité d'individu et non une spécificité d'organe". Le facteur immunogénétique apparaît encore ici.

Il était naturellement intéressant de tenter de préciser la nature de ces antigènes de greffe, en cherchant à les séparer et à les analyser sur le plan biochimique. Il a été ainsi constaté que des préparations acellulaires pouvaient assurer l'immunisation, autrement dit que l'immunisation de greffe n'est nullement liée à la vie cellulaire : ce qui détruit une notion longtemps admise.

La nature biochimique des antigènes de greffe reste encore obscure ; cependant il a été possible d'exclure les acides nucléiques, les mucopolysaccharides, pour retenir actuellement éventuellement une lipoprotéine.

Le stimulus antigénique provenant d'un greffon incompatible apparaît complexe. Tout se passe comme si les antigènes de greffe ne suscitaient pas d'anticorps séri-

ques, comme le font les antigènes H portés par les cellules nucléées, par les globules rouges. La preuve en est qu'on ne peut transmettre passivement l'immunité de greffe en injectant du sérum, des globulines sériques provenant de sujets immunisés. Mais par contre, les cellules lymphoïdes prélevées chez des donneurs immunisés peuvent assurer une transmission active. On en conclura que l'étude des anticorps de greffe est liée à l'étude des réactions qui encadrent, en le précédant et en l'accompagnant, le rejet du greffon incompatible.

Pour la facilité de l'expérimentation et de l'observation, les réactions ont été étudiées surtout pour des greffons de peau. Pendant les deux ou trois premiers jours qui suivent la greffe, les conditions apparaissent identiques, que le greffon soit compatible, ou incompatible. On verra s'effectuer dans le même temps la revascularisation. Mais si le greffon est incompatible, les ganglions lymphatiques réagissent, sous la forme d'une prolifération de cellules à cytoplasme très basophile. Réaction à distance qui précède toute modification au niveau du greffon. Puis celui-ci apparaît infiltré de cellules hyperbasophiles, il est le siège de troubles de vascularisation, et finalement il subit une totale nécrose vers le douzième jour. Telle est la réaction qui survient après le premier greffon incompatible, le rejet de première intention. Le rejet du second greffon incompatible, soit le rejet de deuxième intention, chez le même receveur, avec prélèvement chez le même donneur, se produit plus rapidement, vers le sixième jour, avec une infiltration cellulaire locale d'abord moins importante. En répétant les greffes incompatibles, tou-

jours avec le même donneur et le même receveur, on voit s'accélérer le rejet, lequel va même se produire avant toute vascularisation : c'est ce qu'on appelle le phénomène de la greffe blanche.

Pour préciser si le phénomène d'hyperimmunisation était local, ou systémique, on a placé le deuxième greffon dans la même région que le premier, et, dans d'autres expériences, à distance de lui : le rejet de seconde intention a été aussi précoce dans les deux cas, et l'on peut donc conclure à une phénomène systémique.

Seules des cellules lymphoïdes intactes sont capables de transmettre cette hyperimmunisation ; on peut donc rapprocher l'immunité de greffe de l'immunité dite retardée, et qui dépend des cellules sensibles, mais est indépendante des anticorps sériques. J.L. BINET, G. MATHE et J.L. AMIEL ont montré en 1961, à l'aide d'études en microscopie électronique et optique, qu'au niveau des ganglions drainant des greffes incompatibles, les cellules responsables de la réaction ont le type morphologique des histiocytes ; elles ne sont sûrement pas des plasmocytes, car elles sont dépourvues d'ergastoplasme.

Lorsque donc un receveur reçoit un greffon incompatible, des réactions complexes surviennent, qui n'obéissent nullement à la loi du tout ou rien. Tous les degrés sont observés dans l'incompatibilité de greffe, ce qui est encourageant pour la clinique : même avec des greffons incompatibles, on peut espérer atteindre une tolérance suffisante pour assurer une survie appréciable lorsqu'il s'agit d'affections paraissant comporter une

rapide issue mortelle.

Ainsi les problèmes posés par la greffe de moelle osseuse connaissent des différences capitales selon les relations d'histocompatibilité qui existent entre le greffon - c'est-à-dire le donneur - et le receveur, le malade à traiter. S'il s'agit d'une greffe compatible, autologue, prélevée sur le malade lui-même, ou si elle est isogénique, ce qui implique le cas exceptionnel d'un jumeau monozygote du receveur, l'intervention est simple, et de plus on peut prévoir avec certitude sa réussite.

Mais lorsque le greffon est incompatible, allogénique, parce qu'il provient bien d'un humain, mais non monozygote du receveur, la technique est "la plus élaborée et la plus complexe de la réanimation hématologique" (SCHWARZENBERG, CATTAN et MATHE), et ses résultats sont encore très aléatoires. Cette seconde éventualité est malheureusement de loin la plus fréquemment rencontrée, et l'on comprend alors la complexité de la technique de la transplantation de moelle osseuse en dehors de l'éventualité rare et privilégiée du prélèvement chez un jumeau univitellin.

-:-

- III -

TECHNIQUES

-:-

Prenons d'abord le cas privilégié de la transplantation de moelle osseuse isogénique, provenant du jumeau univitellin du malade. MILLS a procédé comme suit :

le donneur est soumis à une anesthésie générale ; dans des conditions de parfaite asepsie, on procède chez lui à de multiples ponctions à l'aiguille au niveau des épines iliaques postérieures et antéro-supérieures, ainsi que des crêtes. La moelle aspirée dans des seringues de 20 ml en verre siliconé et contenant 1,5 à 2 ml de solution saline de Hank tamponnée, 40 mg d'héparine pour 100 ml dont 10 p.cent en plasma humain frais. Le matériel aspiré est filtré à travers une toile métallique inoxydable n°88 afin d'éliminer les grosses particules de substance ; puis on le place dans des récipients en métal inoxydable siliconé. On prélève des échantillons afin de dénombrer les cellules nucléées ; des portions de moelle sont prélevées du récipient et administrées en injections intra-veineuses successives, de telle sorte qu'il n'y ait pas plus de vingt minutes écoulées entre le moment du prélèvement et celui de l'injection. Dans l'observation de MILLS, les 459 ml de liquide prélevés sur le donneur contenaient 10.04 x 10^9 cellules, soit 10.04 billions. Si tout ce vo-

lume avait été du sang périphérique, il aurait contenu 2.7 billions de cellules nucléées, chiffre calculé par multiplication du taux leucocytaire du donneur. En soustrayant ce chiffre du nombre des cellules nucléées observées, on peut conclure que la substance aspirée contenait au moins 7.3 billions de cellules myélocytaires. Pour lutter contre les effets de l'héparine administrée, on a fait une injection intraveineuse de sulfate de protamine.

Dans l'observation de THOMAS, PHILLIPS et FINCH, concernant également une transplantation de moelle isogène à partir du jumeau monozygote de la petite malade, la technique a été la suivante :

le jumeau bien portant a subi une anesthésie générale. On a fait environ cinquante ponctions au niveau des crêtes iliaques antérieures et postérieures et des tibias. La moelle aspirée a été immédiatement placée dans la solution saline de Hank tamponnée et héparinée, puis passée à travers un tamis d'acier inoxydable ; le volume finalement obtenu a été de 300 ml. Il contenait 6.1 x 10^9 cellules nucléées. La suspension de moelle a été immédiatement injectée au malade par voie intra-veineuse. Ni le donneur, ni le receveur, ne manifestèrent le moindre symptôme. Le malade quitta l'hôpital quatre jours après la transplantation.

Depuis 1959, MATHE et ses collaborateurs utilisent une technique de prélèvement bien codifiée : le donneur est sous neuro-anesthésie (FLAISLER 1965) ; les ponctions sont pratiquées chez lui, essentiellement, au niveau du sternum et des massifs iliaques postérieurs. Le manubrium, tous les segments du

corps du sternum sont ponctionnés avec des trocards de 25 mm et d'un diamètre de 15/10 de mm ; les massifs iliaques postérieurs, avec des trocards de 30 ou 35 mm et d'un diamètre de 18/10 de mm. A chaque ponction on aspire entre 5 et 10 cm3 dans des seringues en matière plastique, non mouillables. Le nombre des cellules nucléées par mm3 varie selon les ponctions entre 20.000 et 40.000. On prélève pour un donneur 300 cm3, ce qui donne en moyenne 1.10^{10} cellules nucléées. L'injection se fait extemporanément par la voie veineuse. La tolérance est parfaite. Le donneur quitte le centre après quelques heures. Le receveur n'éprouve aucune manifestation pénible.

o

Transfusions de moelle allogénique

Il s'agit, nous l'avons vu plus haut, d'une greffe incompatible, et il y a nécessité pour éviter les réactions immunologiques du receveur, de conditionner celui-ci. De plus, si l'exécution n'offre pas de difficultés particulières, ce type de greffe est menacé d'échec parce que la réaction du greffon contre l'hôte risque de susciter le syndrome immunitaire dit secondaire, se traduisant par des manifestations cutanées et digestives, et une grande sensibilité aux infections microbiennes, mais surtout virales. Complications d'autant plus possibles que la prise de la greffe de moelle allogénique est lente et que la sensibilité aux infections persiste pendant la phase d'aplasie, puis au cours et au décours du syndrome secondaire qui abolit la mémoire immunitaire. On est donc contraint de prolonger pendant des mois la réanimation quotidienne du malade, par des transfusions de plaquettes, le séjour en

chambre aseptique, la correction des désordres hydro-électrolytiques qu'entraînent les manifestations digestives du syndrome secondaire, difficultés diététiques, du fait d'une anorexie tenace.

Transfusion de moelle autologue

Ses indications se multiplient actuellement en cancérologie. La greffe exige une technique supplémentaire, la conservation de la moelle prélevée dans du glycérol, du diméthylsulfoxyde. MATHE utilise un milieu conservateur composé à parties égales de milieu 199 de l'Institut Pasteur, et d'une solution de diméthylsulfoxyde à 24 p.cent. Cet auteur ajoute la moelle aspirée dans des seringues héparinées, à parties égales, à ce milieu conservateur dans des flacons de 100 cm3.

La conservation se faisant en congélation, la descente thermique doit être progressive, de + 4°C à - 20°C, au rythme d'un degré par minute environ ; ce qui est relativement facile lorsqu'on adopte des conditions standard de flaconnage, de quantité ; puis on descend très rapidement cette fois de - 20°C à - 70°C. La première étape exige un apport progressif de frigories grâce à un cryostat; la seconde partie peut se faire dans un mélange d'alcool-neige carbonique à -70°C. C'est à -78°C que se fait la conservation en coffres isothermiques au contact de la neige carbonique.

Quant à la décongélation, elle est rapide, par immersion du flacon en bain-marie à 37°C. On injecte directement par voie veineuse sans séparer ni éliminer au préalable le produit conservateur, afin d'éviter la lyse des éléments cellulaires ; le malade est

surveillé car des manifestations d'intolérance surtout vasodilatateurs, peuvent se produire.

o

Les transplantations de greffe osseuse, dès qu'elles n'utilisent pas un donneur et un receveur isologue - ce qui est l'exception, puisque seule une gémellité monozygote réalise ces conditions privilégiées - sont donc incompatibles. Il y a lieu alors de conditionner le receveur en abolissant globalement ses défenses immunitaires : nous avons vu en effet que la mise en jeu de ces défenses était inévitable, et entraînait non moins inévitablement l'échec de la greffe.

Conditionnement du receveur

Il est réalisé par une série de mesures, les unes non spécifiques, les autres, spécifiques.

Conditionnements non spécifiques :

Il en existe trois variétés principales, traitement hormonal corticosurrénal, irradiation totale, antimitotiques chimiques, thymectomie. Dans les trois premiers conditionnements, on cherche à enrayer les divisions cellulaires au niveau du tissu lymphoïde, leur action principale étant l'inhibition de la prolifération des cellules immunologiquement compétentes.

Hormones corticosurrénaliennes

Leur action est suffisante pour assurer la réussite des greffes allogéniques et même hétérospécifiques de tumeurs (TOOLAN 1955); mais en clinique elles n'ont pas de résultat, puisqu'elles ne font que retarder la réponse

immunitaire normale du receveur : la survie des greffons ne se prolonge pas au-delà de quelques jours.

Irradiation totale par radiations ionisantes à dose subléthale

Elle a pu permettre la prise de greffons tumoraux en expérimentation chez l'animal (UMPHY 1914) et des survies prolongées de transplants rénaux chez l'homme (MERRILL 1960 DEMPSTER); mais les greffes de moelle osseuse allogénique ne réussissent pas. Il faut alors recourir à l'irradiation totale à dose léthale, qui, elle, permet à la transplantation de moelle osseuse allogénique de réussir. Des essais ont été faits chez l'animal, irradiation de 800 à 1000 rads chez la Souris (LORENZ 1952), chez le Lapin (PORTER 1957), chez le Chien (FERREBER 1958), chez le Singe (CROUCH 1961), enfin chez l'homme (MATHE 1959) : l'injection de cellules médullaires allogéniques a permis une réponse fonctionnelle, et protège contre le syndrome primaire mortel des irradiés, par aplasie myéloïde. On réalise ainsi une chimère hématopoiétique, en ce sens que préalablement irradié, le receveur devient tolérant vis-à-vis des cellules hématopoiétiques du greffon. Mais celui-ci contient également des cellules immunologiquement compétentes qui vont s'immuniser contre les antigènes du receveur. C'est cette réaction du greffon contre l'hôte qui est à l'origine d'un syndrome secondaire, sur lequel nous reviendrons plus loin : aplasie lymphoïde terminale compliquée d'infections multiples et pouvant être fatales (BEKKUM 1959, MATHE 1960). Il a été remarqué que la fréquence du syndrome secondaire est d'autant plus réduite que le donneur et le

receveur sont plus proches du point de vue de l'histocompatibilité ; qu'elle est d'autant plus élevée qu'ils sont plus éloignés. C'est pour G. MATHE et ses collaborateurs la raison d'employer plusieurs donneurs, tout en conservant la même dose numérique de cellules à administrer. La fréquence de restauration est la même que lorsque le donneur est unique ; et la fréquence du syndrome secondaire est celle observée avec le donneur le plus proche, puisqu'en définitive seule reste greffée la moelle osseuse de ce dernier.

Antimitotiques chimiques : moyen récent de conditionnement actif non spécifique du receveur, ils induisent des tolérances de longue durée, de tissus et même d'organes, chez l'animal, chez l'homme aussi (le rein : KALNE). Diverses substances sont utilisées : mercapto-6 purine (SCHWARTZ et ANDRE), méthyl-nitro-imidazolyl-mercapto-purine, dont l'action peut être renforcée par l'azasérine, actinomycine D, bromo-5-désoxy-uridine, cyclophosphamide, méthyl-hydrazines.

REDON et collaborateurs ont pratiqué une chimiothérapie intensive régionale pour traiter certains cancers localisés ; pour pallier la destruction des cellules nobles de l'organisme en même temps que la cellule néoplasique, et notant que les éléments les plus attaqués étaient ceux de la moelle osseuse, du tissu lymphoïde et des autres cellules à division rapide, muqueuses digestives en particulier, ces auteurs ont pratiqué une chimiothérapie intensive régionale sous couvert de la transfusion de moelle osseuse autologue. Les buts de la chimiothérapie ont donc été ici différents, il ne s'agissait pas d'abolir les défenses immunitaires, mais

d'exercer une action cytolytique sur les éléments néoplasiques. Toutefois, cette indication de la transfusion de moelle osseuse autologue n'en doit pas moins figurer dans notre étude. REDON et ses collaborateurs prélèvent la moelle osseuse et la conservent à -80° la décongèlent et la réinjectent selon les méthodes de l'Institut de Cancérologie et d'Immunogénétique, avec G. MATHE et ses collaborateurs. Les techniques de perfusion et d'infusion intra-artérielle sont voisines de celles de SULLIVAN, la mise en place du cathéter est faite de préférence par une collatérale : temporale superficielle, occipitale, thyroïdienne supérieure, pour irriguer le territoire cervico-céphalique, mammaire interne par l'intermédiaire de la thyroïdienne inférieure (DARGENT) ou directement, s'il s'agit d'un néo du sein ; épigastrique pour le membre inférieur, branche de la gastro-duodénale pour le foie. Les indications les meilleures de la chimiothérapie loco-régionale intensive sous protection de moelle osseuse autologue sont les cancers localisés inopérables. La greffe de la moelle conservée se fait par voie veineuse.

Thymectomie : elle est du domaine de l'expérimentation, puisqu'il a été constaté chez plusieurs espèces animales que l'ablation du thymus à la naissance induit une tolérance à divers antigènes, en particulier aux greffons de tissus non compatibles (MILLER 1961), tolérance qui est parallèle à une aplasie lymphoïde . Chez l'animal adulte, la thymectomie améliore la tolérance des animaux irradiés, plus que ne le fait l'irradiation seule.

o

Conditionnements spécifiques du receveur

Les tentatives de désensibilisation, dans le sens allergologique du terme, ont toujours échoué en matière de greffe. Mais d'autres méthodes spécifiques de conditionnement actif du receveur existent, qui sont :

le facteur de facilitation
la tolérance immunitaire acquise
la paralysie immunitaire
la tolérance des chimères hématopoiétiques.

Facteur de facilitation

On a constaté qu'à la suite de l'injection de tissus lyophilisés, des anticorps sériques apparaissent, qui non seulement n'abrègent pas la survie de greffons vivants ultérieurs du même donneur, mais au contraire la prolongent ; s'il s'agit de greffons tumoraux incompatibles, KALISS en 1958 a même montré que les greffons pouvaient dans ces conditions, proliférer jusqu'à la mort de l'hôte. Chez la femme porteuse de choriocarcinome, ce facteur de facilitation a été retrouvé ; la femme étant immunisée contre les antigènes de son mari par cette tumeur, comme le prouve la présence chez elle d'anticorps antileucocytaires et anti-plaquettaires, alors que la tolérance à un greffon cutané provenant du mari est augmentée par rapport à la normale. A vrai dire, il n'a pas encore été possible d'expliquer la nature de l'action de facilitation des anticorps sériques qui pourraient protéger les cellules vivantes du greffon, en couvrant leurs sites antigéniques, de l'action plus nocive des anticorps endocellulaires de greffe ; ou encore, une action centrale au niveau du tissu lymphoïde pourrait être exercée par ces anticorps sériques.

Tolérance immunitaire acquise

C'est un phénomène dans lequel sont impliqués les antigènes d'histocompatibilité. Lorsqu'on injecte des cellules vivantes allogéniques et que celles-ci se multiplient chez le receveur, foetus ou nouveau-né, ces cellules en outre se greffent, et en outre assurent une tolérance chez cette "chimère" devenue adulte, pour des greffons ou des transplants originaires du même donneur. La tolérance ainsi provoquée dépend de la persistance des antigènes qui ont été administrés.

Toutes les cellules ne sont pas capables de persister en nombre suffisant, et de proliférer : cette propriété semble être celle des cellules hématopoiétiques ; mais la greffe de ces cellules induit un syndrome immunologique, expression de la réaction des éléments immunologiquement compétents contre les antigènes du receveur. Lorsque la greffe est faite chez un individu nouveau-né, le syndrome immunologique prend une haute gravité et AMIEL et MATHE ont montré que l'animal était atteint de nanisme. En clinique humaine, il est donc exclu d'utiliser en tant que conditionnement spécifique la création d'une tolérance immunitaire. MATHE se demande si la conservation des cellules de moelle à 37° ne suffirait pas à éviter le syndrome immunitaire, "pierre d'achoppement à l'utilisation clinique de cette méthode d'induction de la tolérance".

Tolérance des radio-chimères hématopoiétiques

Chez l'animal Souris (MAIN), chez l'homme aussi (MATHE & AMIEL) les faits suivants ont été observés : des Souris d'une lignée A irradiées en totalité à dose léthale, et restau-

rées par une greffe de moelle osseuse d'une autre lignée, B, sont tolérantes à l'égard de n'importe quelles greffes tissulaires de B tant qu'elles sont chimères AB. Nous reviendrons sur ces faits à propos du traitement des leucémies, chez l'animal et chez l'homme, par la greffe de moelle osseuse.

Tolérance par paralysie immunitaire

On sait que chez l'animal adulte, l'injection d'une forte quantité de certains antigènes bactériens provoque non pas la formation d'anticorps chez le receveur, mais la disparition spécifique des défenses immunitaires contre les germes vivants injectés ultérieurement (FELTON et KAUFFMAN 1955). Dans le domaine de l'immunité de greffe, (MICHIE et WOODRUFF 1962) on a retrouvé ce même phénomène de paralysie immunitaire ; à savoir que lorsqu'on injecte à l'animal adulte une très grande quantité de cellules, il peut apparaître une tolérance.

On s'est demandé, enfin, s'il existait une unité entre les divers processus de tolérance spécifique. La tolérance immunitaire acquise est classiquement attribuée à l'immaturité immunologique du receveur. Celle-ci pourrait provenir soit de l'immaturité des cellules immunologiquement compétentes, soit de l'immaturité du milieu, soit encore à la fois de ces deux immaturités conjointes. MATHE a montré que les cellules hématopoiétiques pouvaient chez la Souris induire le syndrome secondaire par réaction des éléments immunologiquement compétents, que le receveur soit nouveau-né, ou irradié. Avec de très faibles quantités de cellules hématopoiétiques, il est possible d'immuniser l'animal nouveau-né contre ces éléments.

L'administration d'une quantité importante de cellules hématopoiétiques peut par ailleurs induire une tolérance chez l'adulte. Mais il y a lieu de tenir compte des rapports quantitatifs entre masse d'antigène introduite, et poids du sujet, c'est-à-dire qu'il faut tenir compte du nombre de ses cellules immunologiquement compétentes, le sens des réactions immunitaires devant alors dépendre du rapport :

$$\frac{\text{masse d'antigène}}{\text{nombre de cellules immunologiquement compétentes}}$$

En s'abaissant, ce rapport infléchit la réponse dans le sens de l'immunisation ; en s'élevant, dans le sens de la tolérance. Cette action pourrait également rendre compte de la tolérance spécifique liée au chimérisme hématopoiétique : irradiation, réaction du greffon contre les cellules lymphoïdes de l'hôte vont réduire le nombre de ces éléments, la prolifération des cellules myéloïdes assurant des antigènes en volume suffisant pour que le rapport

$$\frac{\text{masse d'antigène}}{\text{nombre de cellules immunologiquement compétentes}}$$

soit assez élevé pour que l'orientation de la réaction immunitaire se fasse dans le sens de la tolérance.

Qu'il s'agisse d'antimitotiques chimiques, d'irradiation léthale ou subléthale, de thymectomie, le conditionnement agit en réduisant numériquement les cellules immunologiquement compétentes par rapport à la quantité d'antigène. On pourrait alors penser que

les conditionnements non spécifiques donnent lieu à une tolérance spécifique, la quantité d'antigène expliquant les succès de certaines transplantations d'organes chez l'homme.

°

Deux étapes importantes sont à considérer dans la technique de la transfusion de moelle osseuse, en dehors du prélèvement et de l'administration des cellules au receveur :

- le choix du donneur
- les mesures assurant, après le conditionnement du receveur dont les moyens de défense ont été artificiellement abolis, en particulier par l'irradiation totale, un milieu stérile soustrayant le malade à une possible infection.

Choix du donneur : l'attention a d'abord été tournée vers la détermination des phénotypes érythrocytaires. Le receveur doit avoir le même phénotype que son donneur. Mais l'expérience a montré que cette condition ne suffit pas, puisque le receveur rejette le greffon ou le transplant. La condition n'en est pas moins nécessaire pour les groupes A, B et O ; mais elle ne suffit pas.

On a alors envisagé le rôle des antigènes leucocytaires (COLOMBANI), les groupes sériques, étudiés par MATHE et ROPARTZ pour les greffes allogéniques humaines : mais il n'a pu encore être établi de corrélation entre l'identité du groupe sérique, et la survie du transplant. La technique de la greffe de peau préalable faite pour tester la tolérance du receveur vis-à-vis de son futur donneur de moelle n'aboutit pas à des conclusions nettes. Le meilleur donneur serait théo-

riquement celui dont la peau serait en greffon la mieux tolérée ; mais tout greffon cutané immunise le receveur contre n'importe quel tissu ou organe de ce donneur. Plus intéressant, plus spécifique, serait le test indirect d'histocompatibilité expérimenté par MATHE, test fondé sur l'hypothèse suivante :

"soit un receveur R et plusieurs donneurs "éventuels D1, D2 ... l'on fait à un sujet "Z une greffe de peau de R, qui est éliminée "en une douzaine de jours. L'on fait ensuite "à Z après le rejet de la précédente, des "greffes de peau de D1, D2 ... Le donneur "dont la peau tombe le plus rapidement est "le plus proche de R pour l'histocompatibi-"lité, puisque partageant avec lui les anti-"gènes d'histocompatibilité par lesquels R "a pré-immunisé Z".

Les premiers essais, sans résultats chez la Souris, ont paru satisfaisants chez le Lapin, et également chez l'humme.

Les expériences fondées sur le chimérisme hématopoiétique paraissent plus prometteuses encore ; il s'agit de l'emploi de plusieurs donneurs (OLMER, MATHE et collaborateurs). Pour un nombre de cellules myéloïdes donné, la restauration par transfusion de moelle osseuse chez la Souris d'un mélange de quatre donneurs, dont les uns sont lointains du receveur et les autres proches de lui sur le plan de l'histocompatibilité était de fréquence presqu'aussi élevée que celle obtenue avec le meilleur donneur. Ce serait donc les cellules des différentes moelles qui toutes interviendraient pour la prolifération immédiate. Quant au syndrome secondaire, sa fréquence est pour un nombre donné de cellu-

les, très inférieure à celle qu'induit le donneur le plus éloigné, et à peine supérieure à celle observée après la greffe d'un seul donneur, celui qui est le plus proche sur le plan, toujours, de l'histocompatibilité. La technique des greffes de peau de divers donneurs futurs de moelle osseuse démontre l'existence d'une tolérance spécifique pour le donneur - ou les donneurs - les plus proches, cette tolérance étant liée au chimérisme. Donc seules persistent les cellules médullaires provenant du donneur le plus proche - ou des donneurs les plus proches. Tout se passe donc comme si une sélection s'effectuait spontanément. Ce phénomène existe chez l'homme, et il semble plein de promesse pour une application clinique en matière de transplantation.

Mesures assurant un milieu stérile après conditionnement du receveur : celui-ci est donc privé de ses moyens naturels de défense contre l'infection, dont la prévention et le traitement s'appuient sur l'isolement en milieu stérile, sur les antibiotiques et les gamma-globulines.

Isolement en milieu stérile : en 1965, MATHE et FORESTIER mettaient au point les mesures réalisant des conditions dans lesquelles les risques de contamination bactérienne, virale, mycosique, sont réduits au minimum, sinon abolis. Il s'agit de la réalisation d'un secteur exempt de germes pathogènes dit E.G.P. L'air qui arrive en pression positive à température constante est purifié par plusieurs filtres bactériologiques. De même l'eau utilisée pour la toilette des malades est stérile ; son évacuation ne se fait pas par les conduits généraux, car il faut éviter l'infection ascendante ;

des rampes à U.V. sont réparties régulièrement et restent toujours allumées. Tout le matériel qui pénètre dans cet ensemble, même les aliments, est autoclavé. L'évacuation du matériel septique, des eaux usées, se fait directement de la chambre du malade vers le couloir de dégagement. De même, le personnel qui entre dans ce secteur, est soumis à des examens bactériologiques minutieux et renouvelés du nez, de la gorge, des oreilles, de la peau, des urines et des selles. On ne pénètre dans le secteur exempt de germes pathogènes qu'une fois quittés les vêtements usuels dans un vestiaire non aseptique, une fois lavées et désinfectées les mains dans un premier sas ; puis, dans un second sas, on revêt des vêtements stériles. "De tels locaux exempts de germes pathogènes, et un personnel spécialement entraîné à les utiliser, sont l'élément central d'un centre de réanimation hématologique" (SCHWARZENBERG, CATTAN, AMIEL et MATHE 1966).

A ces mesures s'ajoutent la prévention et le traitement des infections par les antibiotiques et les gamma-globulines. De multiples antibiotiques sont utilisables, mais parmi les nouvelles formules utilisables, il faut retenir avec SCHNEIDER (1965) ceux qui sont particulièrement efficaces : méthicilline, oxacilline, cloxacilline, staphylomycine, céphalotine, colimycine, kanamycine, paromomycine, triméthoprime, enfin, acide nalidixique.

La prévention et le traitement des infections mycosiques sont plus difficiles à réaliser : mycostatine, préventif plus que curatif ; amphotéricine B, active dans les infections à Candida, mais toxique. Quant aux substances antivirales, on sait qu'elles dé-

passent à peine le stade expérimental.

En ce qui concerne l'antibiothérapie, elle ne reconnaît que des indications curatives, et non préventives. Aussi ne sera-t-elle pas mise en oeuvre tant que le malade ne présentera pas de signe clinique d'infection. Ce qui n'exclut nullement la nécessité d'un examen microbiologique quotidien. Dans le cas de signes cliniques d'une infection, deux éventualités sont possibles :

ou bien le germe pathogène responsable peut être mis en évidence. On recherche alors in vitro sa sensibilité aux divers antibiotiques, et l'on administre ceux qui se sont montrés actifs, cela en employant des doses efficaces, c'est-à-dire élevées ;

ou bien le germe pathogène responsable n'a pu être isolé ni identifié. Les examens microbiologiques seront alors répétés jusqu'à ce qu'ils donnent une réponse positive; et le traitement sera entrepris, en association antibiotique à large spectre d'action et à effet bactéricide si la réponse reste négative ; dans le cas contraire, on revient au problème posé précédemment, et l'antibiotique correspondant à l'inhibition la plus forte in vitro est utilisé à dose forte. En pratique, seule sera efficace une antibiothérapie pratiquée en connaissance de cause, c'est-à-dire après isolement du germe en cause et détermination de sa sensibilité.

Les sujets irradiés, ou soumis à une chimiothérapie cytolytique dans le but de détruire les défenses immunologiques sont devenus expérimentalement granulopéniques ; l'infection qu'ils présentent alors leur est très particulière et relève le plus souvent des

staphylocoques; de certaines entérobactéries: colibacilles, klebsielles, aérobacters, proteus, parfois salmonelloses ou encore : alcaligenes faecalis, pseudomonas aeruginosa, voire Listeria. Leur sensibilité aux antibiotiques est très variable, imprévisible, ce qui explique la nécessité absolue de l'examen bactériologique quotidien et l'établissement d'un antibiogramme. L'administration préventive d'antibiotique est formellement contre-indiquée, car elle risquerait de sélectionner un germe résistant à l'origine d'une infection échappant alors à l'action thérapeutique. Pour éviter cette sélection, cette résistance, une fois un agent microbien isolé et identifié, son antibiogramme établi, les doses d'antibiotique devront être actives, c'est-à-dire suffisamment importantes et réparties, afin que la concentration sanguine demeure constante, sans pic ni chute au cours du nyctémère. Si l'isolement du germe se fait attendre, on utilisera en association deux antibiotiques à large spectre d'action, pénicilline associée à la kanamycine, à la colimycine, ou remplacée, dans ces couples, par la méthicilline, l'oxacilline, toujours à dose élevée. Lorsque revient du laboratoire l'antibiogramme demandé, la formule sera modifiée en conséquence.

Il faut savoir qu'une antibiothérapie reconnue efficace dans un type d'infection donnée, dans les conditions habituelles, risque d'échouer dans les conditions particulières dans lesquelles se trouve le receveur de transplant, chez qui les barrières immunologiques ont été abaissées, voire abolies. De même, les réponses obtenues in vitro avec le germe isolé, avec un antibiotique paraissant efficace, ne sont pas entièrement

et directement superposables à l'effet escompté in vivo. L'aplasie médullaire s'oppose à la destruction des germes microbiens survivants, et c'est pourquoi l'on peut être amené à renforcer l'effet bactéricide par l'adjonction de gamma-globulines, par les transfusions de leucocytes.

Gamma-globulines : elles sont à administrer systématiquement chez tout leucopénique. Placentaires, mais surtout plasmatiques, plus pures, plus actives, moins choquantes, les gamma-globulines se présentent en ampoules contenant 165 mg de gamma-globulines par millilitre ; chaque injection ne dépassera pas 5 ml, le rythme étant biquotidien. Parfois, on est amené à recourir à des gamma-globulines spécifiques, obtenues chez des sujets immunisés contre une affection virale déterminée. En cas de transplantation de moelle osseuse chez un malade traité par irradiation totale, SCHWARZENBERG, MATHE et AMIEL administrent la dose totale de 1/2 ml par kg de gamma-globulines chez l'adulte, de 1 ml/kg chez l'enfant, à répéter toutes les trois semaines.

Transfusions de leucocytes: elles ont pour but de pallier les déficits en granulocytes (FREIREICH 1964, SCHWARZENBERG 1964) ; leur technique, très délicate, exige une injection de l'ordre de 5.10^{10} à 2.10^{11} de cellules nucléées par injections, celles-ci devant se répéter chaque jour pour atteindre une dose totale de 5.10^{11} cellules : ce qui exige l'utilisation de donneurs atteints de leucémie myéloïde chronique ; chacun peut en effet fournir un nombre de leucocytes égal à celui qu'assureraient 50 ou 60 donneurs normaux (SCHWARZENBERG 1966). Les globules

blancs sont obtenus par leucophorèse et prélèvement de ces éléments. Le sang du donneur est prélevé en flacon siliconé de 500 cm3 contenant du citrate de sodium à 4 p.1.000 ; il sédimente à la température du laboratoire si le taux leucocytaire est au moins égal à 200.000/mm3 ; au-dessous de 120.000/mm3 on accélère la sédimentation en ajoutant le dextran à 6 p.cent. La sédimentation des érythrocytes au fond du flacon est terminée en 60-90 minutes. Le surnageant prélevé est centrifugé à basse vitesse, 100 G (800 t par minute) ; il est repris dans une solution physiologique si l'injection leucocytaire doit être faite le jour même, dans un milieu conservateur, tyrode-glycérol 15 p.cent, 199-diméthylsulfoxyde à 12 p.cent si l'on se propose d'utiliser la conservation au froid à -196°C. Le culot leucocytaire est alors additionné à parties égales avec une solution de concentration double de la concentration finale : tyrode+glycérol à 30 p.cent, 199 + DMSO à 24 p.cent ; la descente thermique se fait comme pour la conservation de la moelle osseuse.

o

Dans le cas particulier du traitement des leucémies, MATHE et ses collaborateurs, en 1965, résumaient comme suit la technique de la greffe de moelle osseuse :
pour l'irradiation préalable, il faut utiliser des rayons émis sous haute énergie, par exemple les rayons du cobalt RA ; le sujet est exposé à l'irradiation simultanée de deux sources, disposées, à l'Institut Gustave Roussy, dans deux chambres attenantes, avec une ouverture entre elles, pratiquée dans le mur qui les sépare ; le sujet est placé dans

cette ouverture, l'irradiation est ainsi rapide.

Par ailleurs, nous avons vu que la moelle osseuse est prélevée par une centaine de ponctions osseuses à l'aide de trocarts ordinaires et de seringues siliconées à fort pouvoir d'aspiration ; les seringues sont rincées avec une solution d'héparine, et le volume prélevé à chaque ponction ne dépasse pas 5 cm3. Les cellules recueillies sont comptées, on distingue les cellules vivantes qui dans la solution d'éosine sont de petite dimension et non colorées. On injecte 3×10^{10} éléments, dans une veine quelconque, avec la seringue qui a servi à recueillir la moelle, si on n'envisage pas la conservation à froid de celle-ci ; l'aiguille doit être assez fine pour éviter toute filtration. Nous avons vu comment le malade transplanté de moelle osseuse est maintenu dans un appartement stérile. Comme le personnel, il doit porter des lunettes pour éviter les accidents du rayonnement ultra-violet permanent stérilisant le milieu.

On voit que toutes les étapes des transplantations de moelle osseuse exigent de multiples et complexes gestes. Ces mesures sont indispensables et pour que le transplant médullaire ait des chances de réussir, et pour que cette thérapeutique ne suscite pas de redoutables complications, plus dangereuses encore que dans l'immédiat, la maladie causale.

Nous allons donc maintenant envisager les indications et les résultats des transplantations de moelle osseuse, comme traitement de remplacement dans les états d'insuffisan-

ce myéloïde, aplasies et hypoplasies post-médicamenteuses, irradiations accidentelles; dans certaines affections néoplasiques traitées par chimiothérapie intensive.

-:-

- IV -
INDICATIONS ET RESULTATS

-:-

Dans un premier groupe d'indications des transplantations médullaires, il s'est produit involontairement une hypoplasie ou une aplasie médullaire, à la suite d'un traitement médicamenteux, ou du fait d'une irradiation massive accidentelle.

Dans un second groupe d'indications, on cherche à traiter une affection néoplasique, cancer, leucose.

o

A) Traitement par remplacement des états d'insuffisance myéloïde

a) Dans les aplasies myéloïdes cryptogénétiques

Les transplantations de moelle osseuse ont été tentées dans des aplasies et hypoplasies médullaires de diverses origines. Deux cas américains privilégiés (MILLS 1964, THOMAS 1964) appartiennent à cette catégorie : privilégiés, car il s'agissait de l'un d'une paire de jumeaux monozygotes, et le prélèvement de moelle isogénique a été suivi, comme on pouvait s'y attendre, d'un plein succès.

Observation de MILLS, KYLE, HALLENBECK, PEASE et CREE (1964) -

Une petite fille de 7 ans présente une ané-

mie hypoplasique sévère, sans origine décelable. L'enfant est hospitalisée pour pâleur et gingivorragie datant de six semaines. Rapidement, le tableau sanguin devient très alarmant :

hémoglobine	11 g par 100 ml
leucocytes	3.300
lymphocytes	67 %
monocytes	3 %
neutrophiles	22,5 %
éosinophiles	1,5 %
métamyélocytes	0,5 %
prolymphocytes	2,5 %
lympho atypiques	3 %
réticulocytes	0,9 %
plaquettes	5.000/mm3
taux de sédimentation (Westergren) :	54 mm-1 heure

Un premier examen de la moelle osseuse devait montrer :

graisse	1	vol. %
plasma	65	vol. %
couche myéloïde-érythroïde	2	vol. %
couche érythroïde	32	vol. %

La moelle était pauvrement cellulée avec de nombreux lymphocytes mûrs, quelques cellules myéloïdes, basophiles tissulaires et amas d'histiocytes ; quelques normoblastes polychromatiques et orthochromatiques, un seul mégacaryocyte. Le taux de disparition des érythrocytes marqués par 51 Cr a été de 3,4 p.cent par jour au lieu de la normale de 2 p.cent, peut être du fait d'une légère hémolyse par méloena, ou à la suite de fréquentes transfusions sanguines.

Un traitement prolongé par prednisone, 40 mg par jour pendant deux mois, puis 30, puis 20 mg par jour pendant 15 mois ne fait pas disparaître le syndrome anémique. La splénectomie n'est pas plus efficace. En deux ans et demi on a pratiqué 67 transfusions de sang total et quatre transfusions de plaquettes. C'est alors que l'on envisage une transplantation médullaire, l'enfant ayant une soeur jumelle monozygote. Le prélèvement s'est fait chez le donneur en anesthésie générale, avec de multiples ponctions à l'aiguille au niveau des épines et crêtes iliaques postérieures et antéro supérieures. Le volume aspiré, 459 ml, contenait $10.04 \times 10.^{9}$ d'élément, soit 10.04 billions. A la suite de la transplantation, bien tolérée, une amélioration s'est amorcée au bout de six semaines : transfusions sanguines devenues inutiles, atténuation de la tendance aux hémorragies cutanées. Un traitement par prednisone à 15-40 mg/jour a été arrêté dix mois plus tard. Un transplant cutané du donneur est resté intact chez le receveur, qui a présenté une sensible amélioration des formules sanguine et médullaire. Six mois après la transplantation de moelle, la formule médullaire était la suivante :

		normales
myéloblastes	1.5	1.0
progranulocytes	1.5	1.5
myélocytes	16.5	19.0
métamyélocytes	7.0	23.0
neutrophiles	21.5	12.0
éosinophiles	3.5	5.0
basophiles	0.0	0.0
basophiles tissulaires	0.0	0.0
monocytes	5.5	1.0
lymphocytes	20.5	13.0
plasmocytes	1.0	0.0

		normales
pronormoblastes	2.5	0.5
normoblastes basophiles	3.5	1.5
normoblastes polychromatiques	12.5	19.0
normoblastes orthochromatiques	3.0	5.0
mégacaryocytes	normal	
rapport myélo-érythro	2,4 : 1	2,5 : 1

Cliniquement l'enfant s'est bien rétabli, a repris sa scolarité et mène une vie active normale. La transplantation de moelle osseuse en tant que mesure de remplacement a donc agi là où la corticothérapie, la splénectomie, les transfusions sanguines, avaient échoué.

o

Observation de THOMAS, PHILLIPS et FINCH (1964)

Une petite fille de 9 ans, appartenant à une paire de jumeaux monozygotes, présente des épistaxis et des hématémèses graves.

Les premières numérations donnent une valeur d'hématocrite de 27,7 p.cent avec un taux de leucocytes de 1.700 et un taux de plaquettes sanguines de 4.000 par mm3. Le taux des polynucléaires en valeur absolue est de 200 par mm3.

On note à l'examen électrophorétique une légère hypoprotidémie. Les diverses cultures microbiennes sont négatives. La moelle osseuse est pauvrement cellulée, avec absence totale de précurseurs érythroïdes, myéloïdes, plaquettes ; graisse abondante, nombreux fi-

broblastes et réticulocytes. On fait une transfusion de sang frais, et on arrête le traitement par fer et cortisone. La persistance des hémorragies incite à faire de nouvelles transfusions. L'état s'aggrave, avec fatigabilité, gingivorragies, parfois subfébrilité. La formule sanguine et médullaire reste très anormale.

Une transplantation de moelle osseuse est alors décidée, avec prélèvement chez le jumeau univitellin. Le groupage sanguin ne donnait aucune indication du fait des transfusions reçues par la malade. Une greffe cutanée croisée était contre-indiquée par la thrombocytopénie pour le receveur, par le risque de transmettre une éventuelle leucémie pour le donneur. Des explorations cinétiques ont donné des résultats en faveur d'un raccourcissement du temps de survie des érythrocytes, comme origine de l'anémie aplasique.

Sous anesthésie générale, on fait chez le jumeau normal 50 aspirations de moelle sur les crêtes iliaques antérieures et postérieures et sur les tibias. Placée en solution saline de Hank, héparinée, passée au tamis d'acier inoxydable, la substance aspirée avait finalement un volume de 300 ml, et contenait 6.1×10^9 cellules nucléées. La suspension médullaire a été immédiatement injectée par voie veineuse au malade. Aucune réaction n'a été notée chez les deux enfants. Au bout de sept jours, on a déjà pu constater chez le petit malade une réponse plaquettaire et réticulocytaire, une lente élévation leucocytaire. Cinq mois plus tard, l'état général et hématologique était normal.

A côté de ces deux succès, de MILLS et de THOMAS, il faut signaler le cas de TOCANTINS et Mac KENNA, concernant un garçon de quinze ans atteint d'aplasie médullaire cryptogénétique depuis un mois. On a pratiqué une transplantation de moelle osseuse isogénique (jumeau univitellin) à la dose de 2.0×10^9 sous le couvert d'une hormonothérapie de testostérone et de prednisone. Malgré ces conditions favorables, aucune reprise hématologique ne s'est produite, et la mort est survenue en un mois.

b) Dans les aplasies myéloïdes post-médicamenteuses

Il semble que ces formes d'origine connue comportent dans l'ensemble un pronostic meilleur que celui des hypoplasies ou aplasies sans étiologie décelable. En effet, le système hématopoiétique était au départ normal, et ce n'est qu'accidentellement qu'il a été lésé. On peut donc espérer qu'un apport exogène lui donne le temps de la reprise d'une fonction à nouveau normale. Les conditions sont donc souvent plus favorables que lorsque le trouble est intrinsèque.

Dans le traitement des aplasies myéloïdes post-médicamenteuses, ce sont surtout des transplantations de moelle allogénique qui ont été tentées.

BEILBY, en 1960, a obtenu un succès chez un malade atteint d'aplasie myélo-lymphoïde due à l'acide p-bis - (2-chloro-éthylamino)-phénylbutyrique.

BRIDGES, la même année 1960, a traité par greffe médullaire une aplasie myélo-lymphoïde par thio-triéthylène-phosphoramide.

J. OLMER et ses collaborateurs ont tenté, en 1963, une greffe de moelle osseuse dans une aplasie médullaire survenue après médication anti-épileptique :

Une jeune fille de 16 ans est adressée à la Clinique Médicale thérapeutique de Marseille pour une anémie grave découverte à l'occasion d'une angine avec fièvre élevée.

Les dernières règles ont été anormalement abondantes et prolongées. Depuis l'enfance, des crises de petit mal ont été traitées par divers moyens. Le dernier traitement depuis 3 mois comporte 2 ortenal plus 7 capsules de zarontin par jour. Actuellement, l'angine est discrète, sans ulcérations, ni adénopathies ni splénomégalie ; mais la fièvre oscille entre 39° et 40°. Un petit syndrome hémorragique s'exprime par des métrorragies abondantes et persistantes, des ecchymoses au niveau des membres inférieurs, un signe du lacet très fortement positif, pour des temps de coagulation et de saignement normaux. L'anémie est intense : 950.000 G.R., normochrome, avec une sidérémie normale à 120 gammas, et une réticulocytose à peu près nulle. La leucopénie est très marquée : 1.200 G.B. avec 98 p.cent de lymphocytes et 2 cellules indifférenciées ; 210.000 plaquettes.

Le myélogramme présente une très faible densité cellulaire, sans élément de la lignée granulocytaire, sans mégacaryocyte 2 éléments de la série rouge seulement, la série histiomonocytaire occupant les espaces libres avec 11 cellules réticulocytaires adultes et 30 plasmocytes. Redoutant l'hémorragie on ne fait pas de biopsie de moelle osseuse, les tests de coagulation sont alté-

rés dans le sens d'un déficit plaquettaire; sur le thromboélastogramme on note un allongement de r et de k et une activité plaquettaire à peu près nulle. L'électrophorèse montre une augmentation notable des alpha 2 globulines avec baisse des albumines et des gamma-globulines. Cette aplasie médullaire majeure qui permet d'éliminer une leucose aiguë, peut être attribuée au traitement anti-épileptique : le zarontin est l'alpha-éthyl-alpha-méthyl succinamide qui dans quelques cas a pu en effet être rendu responsable d'aplasie médullaire mortelle (cas américain de L. MANN 1962). Devant l'extrême gravité de cette atteinte, on décide de pratiquer une greffe de moelle osseuse homologue (faute de jumeau ...) et en attendant on institue un traitement de transfusions sanguines massives répétées, de delta-cortisone 100 mg par jour, de poly-antibiothérapie : tétracycline et mycostatine. La leucopénie tombe encore, à 200 G.B. sans polynucléaires ; les myélogrammes ultérieurs montrent l'absence de tout élément.

Grâce au Centre de Transfusion Sanguine de Marseille, avec le Dr BATTAGLINI du service de radiothérapie de la Conception, J. OLMER et ses collaborateurs purent procéder à une transplantation de moelle osseuse:

Sélection des donneurs : des 40 volontaires qui se sont présentés au groupage, 6 ont été retenus comme compatibles.

Conditionnement de la malade, nécessaire puisqu'il s'agissait de greffe de moelle adulte homologue. Deux irradiations successives sur les deux hémicorps, supérieur et inférieur, ont été faites, avec 450 r par champ, 200 kV 15 milliAmpères, à 2,20 m de

distance. Chaque hémicorps a été irradié en deux demi-doses, antérieure et postérieure, de 225 r pendant 45 minutes avec interruption de 30 minutes entre l'irradiation des deux hémicorps. Soit au total 900 r en 90 minutes, dose léthale en 20-25 jours si la greffe ne réussissait pas.

Prélèvement de la moelle : le 10e jour de l'hospitalisation de la malade, et sous anesthésie générale, au trocart de Mallarme, on a prélevé chez les six donneurs, au niveau du sternum et des crêtes iliaques 60-80 ml de moelle pour chacun, soit un total de 450 g environ ;
Injection de la moelle par voie veineuse ; mise en chambre stérile
Poursuite du traitement : transfusions sanguines : un litre le jour de la greffe, un demi-litre par jour ensuite ;
corticothérapie : 100 mg de delta-cortisone; transcycline, puis pénicilline, 50 millions d'unités, en perfusions.

La température a oscillé entre 37° et 39°. La malade était prostrée, mais consciente. Le syndrome hémorragique persistait : métrorragies discrètes, suintement nasal, éruption ecchymotique et surtout pétéchiale thoraco-abdominale. Le troisième jour après la greffe, la fièvre s'est élevée à 40°4 avec accentuation de la somnolence et du purpura ; décès le matin du quatrième jour. La veille, on avait trouvé 3.640.000 G.R. et 200 G.B.

Citons encore deux observations d'aplasie médullaire post-médicamenteuse, mais traitée par des transplantations de moelle osseuse isologue :

cas de FERNBACH et TRENTIN, concernant un garçon de 3 ans, chez qui l'aplasie médullaire pouvait provenir aussi bien de sulfamides que de chloromycétine ; au quatrième mois, on fit une première transplantation de 3.6×10^9 cellules sous le couvert de stéroïdes, sans résultat hématologique net. Deux mois plus tard, nouvelle transplantation de 2.8×10^9 cellules hématopoiétiques. Le malade suivi depuis quatre ans présente une légère leucopénie et une sévère thrombocytopénie.

cas de ROBINS et NOYES :
une petite fille de sept ans est traitée par les anti-épileptiques. Trois semaines après le diagnostic d'aplasie médullaire, on fait une transplantation de moelle osseuse : 5.5×10^9 cellules hématopoiétiques avec un traitement de prednisone et de norethandrolone. Le résultat hématologique est excellent, et trois ans et demi plus tard l'état général et sanguin reste bon. Il apparaît donc que les transplantations de moelle isologue sont d'autant plus efficaces que d'une part leur tolérance est - au moins théoriquement - parfaite et que d'autre part elles ne nécessitent pas l'irradiation léthale préalable.

o

c) Aplasies par irradiations

Ce fut la première indication des transplantations de moelle osseuse. Il s'agissait de cinq sujets irradiés accidentellement au Centre de Vinca, en Yougoslavie, par un mélange de rayons gamma et de neutrons. MATHE et ses collaborateurs, à qui ces malades furent confiés, estimèrent, après confronta-

tions des données physiques, cliniques, hématologiques et histologiques, que les doses reçues étaient supérieures à la DL 75 p. cent dans quatre cas et supérieures à la DL 30 p.cent dans le cinquième cas. Ces sujets ont été traités par transfusion de moelle osseuse, à des dates variables par rapport à l'irradiation, l'indication de cette tentative et son moment étant déterminés pour chacun d'eux par l'échec présumé du traitement symptomatique. Ces transfusions ont été suivies de restauration myéloïde, que MATHE a pu à juste titre attribuer à une greffe des éléments transfusés. En effet :

- en faveur du succès de la transplantation, il y a d'abord une raison indirecte : les sujets ont été tous irradiés accidentellement en même temps, et pour quatre d'entre eux, à la même dose. Pourtant la restauration myéloïde a eu lieu à des périodes différentes, correspondant exactement aux moments respectifs et différents où la greffe a été faite.

- en faveur encore de la responsabilité de la transplantation dans la guérison, intervient une raison directe : grâce aux différences dans les phénotypes érythrocytaires entre donneurs et receveurs, il a été possible de calculer la quantité de globules rouges produite par chacun des greffons, et cette quantité a représenté pendant trois semaines, tout le volume de sang produit. Quantité de sang fournie par les greffons qui d'ailleurs n'a augmenté que pendant trois semaines, puis elle a diminué, ce qui marque le retour de la production myéloïde autologue : d'où la conclusion logique d'une greffe transitoire dont le rôle thérapeuti-

que est mis en évidence par le fait qu'un seul accidenté est décédé, tandis que quatre avaient reçu une dose supérieure à la DL 75 p.cent. Le sujet qui devait décéder a d'ailleurs présenté une très bonne restauration myéloïde, la mort ayant été provoquée par les radiolésions intestinales. Dans aucun cas il n'y a eu de syndrome secondaire, ce que l'on peut expliquer par le caractère transitoire de la greffe.

Les conditions étiologiques de l'aplasie médullaire ont finalement réalisé accidentellement, involontairement, la baisse immunologique exigée pour la réussite de la greffe. Et devant cette réussite thérapeutique de 80 p.cent, on comprend qu'une voie nouvelle se soit offerte et ait été ultérieurement exploitée. Citons encore le cas de FERNBACH (1963) concernant une aplasie médullaire post-radiothérapique.

o

B) Affections néoplasiques

Une chimiothérapie anticancéreuse pour être efficace, doit être massivement cytolytique ; si les éléments néoplasiques sont détruits, les tissus sains peuvent être aussi affectés, et l'on connaît la dangereuse déglobulisation qui menace le sujet ayant reçu une irradiation massive, ou un traitement de moutarde azotée. On devait donc considérer que les transplantations de moelle osseuse, par leur protection, devaient trouver de nouvelles indications en cancérologie, tumeurs localisées, leucoses.

a) Cancers localisés

Certains auteurs avaient pensé qu'une néoplasie disséminée, donc inopérable, pouvait bénéficier d'une irradiation totale sous le couvert d'une greffe de moelle osseusse ; celle-ci était isogénique dans les essais de E. THOMAS et collaborateurs (1959), autologue dans ceux de KURNICK (1959). Pour MATHE, la méthode est sans grand intérêt, "car il n'est pas de cancer dont les cellules soient suffisamment radiosensibles pour qu'une irradiation totale à la dose maximale tolérée, avec protection de moelle osseuse, puisse l'éradiquer". Cet auteur par contre signalait que des rémissions pouvaient être obtenues dans certaines leucémies aiguës.

Les expériences cliniques de REDON, DUPAS, FASANO, SINGIER et NATAF (1966) concernant une chimiothérapie intensive régionale de 20 cancers sous protection de transfusion de moelle osseuse autologue :

10 mastites carcinomateuses ou cancer du sein en phase avancée
2 naevocarcinomes récidivés du membre inférieur
3 tumeurs inopérables de la région cervico-faciale
3 carcinoses pelviennes
1 cancer du pancréas
1 sarcome du fémur.

Le prélèvement de moelle osseuse, la conservation à -80°, la décongélation et la réinjection n'ont rien de particulier. Toutes ces étapes ont d'ailleurs été faites en collaboration avec l'équipe de G. MATHE à l'Institut de Cancérologie et d'Immunogénétique.

Les techniques de perfusion et d'infusion intra-artérielle pour la chimiothérapie font appel à des voies choisies en fonction de la localisation de la tumeur : perfusion par la mammaire interne pour le sein, par l'épigastrique pour le membre inférieur, par la temporale pour la région cervico-faciale, bifurcation aortique par cathéter de Seldinger pour les carcinoses pelviennes, tronc coeliaque pour le pancréas, fémorale profonde pour le fémur.

Le prélèvement de moelle sur le malade lui-même a été fait sous anesthésie générale, immédiatement avant le cathétérisme artériel. L'infusion a duré 48 heures à 3 semaines, avec des doses et des associations chimiothérapiques variables : le plus souvent il s'agissait de fortes doses de 5-FU.

Nous illustrerons cette indication des transfusions de moelle osseuse autologue dans le traitement de certains cancers par quatre observations de REDON :

1. Sarcome du tiers moyen du fémur gauche chez une jeune fille de 17 ans ; l'amputation est refusée par la famille. On décide une chimiothérapie intensive sous protection de moelle osseuse autologue. Prélèvement de moelle, mise en place d'un cathéter dans la fémorale profonde, vérification de la bonne injection de la tumeur par artériographie. Infusion de deux semaines d'une dose totale de 25 g de 5-FU et de 10 g d'endoxan. Arrêt du traitement à 200 globules blancs. Greffe de la moitié de la moelle conservée ; la formule blanche est redevenue normale en une semaine, fonte spectaculaire de la tumeur qui ramollie peut être évacuée

à la curette. La cuisse présente un aspect normal cinq semaines plus tard. Mais au sixième mois, récidive localisée au-dessus du genou ; l'amputation étant toujours refusée, on fait une exérèse segmentaire de la tumeur, ce qui eut été irréalisable huit mois plus tôt.

2. Naevocarcinome récidivé du membre inférieur six mois après une résection large et une greffe chez une femme de 35 ans. Prélèvement de moelle, cathéter dans l'épigastrique ; infusion pendant dix jours d'une chimiothérapie d'une dose totale de 10 g d'endoxan et de 15 g de 5-FU. Dès la deuxième semaine, disparition de la moitié des lésions naeviques ; à la troisième semaine, résection large et greffe ; récidive dix mois plus tard au niveau de la cuisse : exérèse, greffe, curage inguinal.

3. Mastite carcinomateuse du post-partum chez une femme de 30 ans, prise en masse du sein droit avec lésions cutanées dépassant largement les limites de la glande, nodules adhérence aux plans profonds, prise en masse de l'aisselle. La castration chirurgicale est sans effet net ; mise en place d'un cathéter dans la mammaire interne en passant par la thyroïdienne inférieure et dans la même séance prélèvement de 250 cc de moelle osseuse. Infusion de trois semaines d'une dose totale de 32 g de 5-FU ; la chute de la formule blanche à 300 G.B. entraîne l'arrêt de l'infusion ; greffe intra-veineuse de la moitié de la moelle conservée, remontée en une semaine de la formule à des chiffres voisins de la normale. Désinfiltration spectaculaire du sein dès la deuxième semaine, peau normale, mobile sur la glande, creux axillaire nettoyé, ganglions mobilisables.

En fin de traitement on ne perçoit plus qu'un seul ganglion.

4. Mastite carcinomateuse chez une femme de 22 ans : sein gauche pris en masse depuis trois mois, peau d'orange, infiltration de l'aisselle. Une drill-biopsie confirme le cancer (Pr. NEZELOF). Castration chirurgicale, cobalthérapie de trois mois, sans résultat. Chimiothérapie intensive par cathéter dans la mammaire interne de 16 g de 5 FU et de 0,600 de THIOTHEPA ; prélèvement de 350 cm3 de moelle, conservée. La formule blanche tombe, la chimiothérapie est arrêtée, la greffe de moelle osseuse est pratiquée. La formule remonte rapidement, localement désinfiltration du sein et du creux axillaire. Ultérieurement, mammectomie secondaire.

Cette série de vingt cas, rapportée dans la thèse de NATAF (1966) a toujours comporté des infusions de dose variable mais souvent considérable de 5-FU avec des associations diverses. La dose n'est pas fixée à l'avance, l'infusion étant arrêtée lorsque la formule blanche avoisine 500 G.B. On injecte alors la moitié de la moelle autologue conservée. Dans 19 cas sur 20, la formule blanche est redevenue normale en une à deux semaines ; dans trois cas seulement, la rechute leucocytaire a nécessité l'injection de la seconde moitié de moelle osseuse. Un seul décès a été enregistré à la quatrième semaine du traitement, par perforation intestinale chez une femme porteuse de cancer du sein. Les résultats à court terme sont les suivants :

- rémission apparemment complète dans 2 cancers du sein ;

- rémission incomplète : 2 naevocarcinomes, 3 cancers cervico faciaux, 1 sarcome fémoral, 6 cancers du sein ;

- échec partiel, régression de quelques unes des manifestations, douleurs, hémorragies : 3 carcinoses pelviennes, 1 cancer pancréatique avec régression de la masse tumorale;

- échec total de la chimiothérapie : 2 cancers mammaires avancés.

Leucémies

Sous la même rubrique, nous rangerons d'autres affections malignes disséminées, puisqu'aussi bien la technique thérapeutique est la même, mais ce sont les leucoses qui expérimentalement et cliniquement ont été les mieux étudiées. MATHE et ses collaborateurs écrivaient en 1966 que "la greffe de moelle autologue trouve sa principale indication dans le traitement des aplasies délibérément provoquées, donc dans le traitement chimiothérapique intensif de sujets atteints d'affections malignes disséminées". A la période d'aplasie, on pratique une greffe de moelle autologue, ce qui permet d'augmenter les doses de produits antimitotiques administrés et, surtout, de pouvoir donner à doses utiles les associations de différents produits actifs sur la prolifération maligne qu'il s'agit d'enrayer. MATHE dès 1965 a obtenu des résultats notables dans le traitement des formes disséminées et viscérales de maladie de Hodgkin, de lymphoblastosarcome. La radiothérapie très étendue de ces hématosarcomes, même dans leurs formes régionales, pourra être poussée très loin grâce à ce nouveau moyen de réanimation hématologique qu'est la greffe de moelle osseuse autologue.

Dans le traitement des leucémies, l'emploi de greffe de moelle allogénique après irradiation totale à forte dose, 800 rads environ, paraît indiqué dans les formes aiguës. Une greffe totale et durable, portant à la fois sur les cellules myéloïdes et sur les cellules immunologiquement compétentes, donne une rémission complète et durable, peut-être définitive, d'une leucémie aiguë en phase évolutive lors de l'établissement du greffon.

On peut distinguer, dans les résultats obtenus chez les leucémiques, deux modalités, selon que la greffe est transitoire, ou qu'elle est définitive. MATHE et SCHWARZENBERG citent en 1965 deux cas de greffe transitoire. Un malade était atteint d'une leucémie lymphoblastique aiguë ; par la chimiothérapie classique, on obtient chez lui une première rémission de douze mois, une seconde rémission de cinq mois. Avec la méthode d'irradiation suivie de moelle osseuse allogénique, on assura une survie d'un an, avec une rémission complète de neuf mois. Un second malade était atteint du même type de leucémie. La chimiothérapie lui avait assuré une première rémission de huit mois, une seconde rémission de trois semaines. A ce moment apparaît une résistance à tous les traitements. On pratique donc l'irradiation suivie de transplantation de moelle osseuse allogénique ; on obtient une rémission de cinq mois, une survie de neuf mois. Dans ces deux cas, la greffe, transitoire, n'a duré que trois mois. Une greffe définitive, c'est-à-dire fonctionnant à 100 p.cent depuis plus d'un an, a été observée chez un autre malade. Les cellules sanguines, les anticorps produits, présentent les caractères génétiques pro-

pres au donneur. Or ce malade avait eu une première rémission de onze mois suivie de rechute, une seconde rémission de deux semaines. Puis s'instaure une résistance à toutes les thérapeutiques. C'est alors que l'on a recours à l'irradiation totale suivie de greffe de moelle osseuse allogénique. L'état actuel de parfaite rémission se prolonge depuis plus de dix huit mois.

Les résultats paraissent améliorés lorsqu'on utilise pour chaque receveur plusieurs donneurs allogéniques (six en moyenne)choisis dans la famille, mieux, dans la fratrie du receveur chaque fois que possible, en respectant les groupes ABO et Rhésus. Si on ne peut disposer de donneurs apparentés en nombre suffisant, il faut choisir parmi les donneurs volontaires en tenant compte des résultats de l'étude des antigènes leucocytaires, de la réaction de transfert des leucocytes mélangés du receveur et de chacun des donneurs possibles sur le hamster irradié, enfin, de la transformation de populations mélangées de lymphocytes in vitro. BREZIN en 1965 demande que ces méthodes deviennent des techniques de routine dans tout centre de réanimation hématologique. La dose de moelle osseuse doit être soigneusement fixée, car il existe un nombre optimal de cellules nucléées médullaires allogéniques pour le traitement du receveur irradié : en moyenne 6.10^{10} cellules ; un taux supérieur risque d'aggraver le syndrome secondaire qui l'emportera sur l'amélioration de la restauration myéloïde.

Autre difficulté, la lenteur de la prise de moelle allogénique, la grande sensibilité aux infections des chimères hématopoiétiques allogéniques pendant la phase d'apla-

sie, puis au cours et au décours du syndrome secondaire, pendant lequel la mémoire immunitaire est abolie.

Ce syndrome secondaire, évoqué déjà à maintes reprises, mérite un développement, puisqu'aussi bien il représente la cause principale des échecs de la transplantation de moelle osseuse chaque fois que celle-ci n'est pas isogénique ce qui correspond à la grande majorité des cas. C'est donc aux causes d'échec que nous consacrerons les pages qui terminent notre travail.

-:-

- V -

CAUSES D'ECHEC. LE SYNDROME SECONDAIRE

-:-

La greffe de cellules hématopoiétiques provoque un syndrome immunologique, dit syndrome secondaire, due à la réaction du greffon contre l'hôte. Car ce greffon hématopoiétique contient non seulement des cellules myéloïdes : érythroblastes, granulocytes, mégacaryocytes, mais encore des cellules immunologiquement compétentes, nous l'avons vu, et à l'origine d'anticorps.

Il faut reconnaître que les échecs des transplantations de moelle osseuse sont actuellement plus nombreux que les succès ; ceux-ci par contre sont presque de règle lorsqu'il s'agit de moelle isogénique, c'est-à-dire que la transplantation n'a pas besoin d'être précédée d'une irradiation totale, massive, léthale.

Les causes d'échecs sont multiples :

- la première relève de la grande précocité du syndrome secondaire dans certains cas. Si ce syndrome immunologique apparaît avant que ne soit réalisée la restauration myéloïde, le receveur succombe. On a pu facilement provoquer ce syndrome secondaire précoce chez la Souris, simplement en greffant non seulement des cellules médullaires, mais aussi des cellules lymphoïdes ; on peut également déclencher le syndrome précocement en

injectant un nombre trop important de cellules médullaires : car ce geste en même temps augmente le nombre des cellules immunologiquement compétentes. Le syndrome a été expérimentalement observé chez le Singe.

Chez l'homme, il s'est produit un syndrome secondaire très précoce chez deux malades de MATHE. Lors du décès, on trouvait sur les myélogrammes des signes de restauration myéloïde très marquée ; pourtant, l'hémogramme ne montrait aucun aspect de repeuplement. L'examen histologique post mortem donnait les signes caractéristiques du syndrome secondaire. La précocité du syndrome immunologique, qui fait précéder la restauration myéloïde, a été expliquée comme suit. Le rapport :

$$\frac{\text{nombre de cellules lymphoïdes}}{\text{nombre de cellules myéloïdes}}$$

est particulièrement élevé dans le matériel ponctionné, qui représente un mélange de sang et de moelle osseuse. Mélange qui contient une part importante de sang. Dans la technique à utiliser, tout doit donc être mis en oeuvre - dans la mesure du possible - pour que le prélèvement porte sur les éléments médullaires et non sanguins.

- la seconde cause d'échec paraît appartenir à la dose injectée lors de la transplantation de moelle osseuse. Si celle-ci est trop élevée, elle risque de favoriser l'apparition du syndrome immunologique ; mais si elle est trop faible, la réanimation hématologique ne se fera pas. Or, aussi longtemps qu'on ne s'est adressé qu'à un seul donneur, les quantités de cellules nucléées prélevées risquent d'être faibles, et insuffisantes. MATHE indique ainsi que les quantités obte-

nues par ponction et ré-injectées n'ont pas dépassé $1,5 \times 10^{10}$ cellules nucléées, alors que le calcul donnait le chiffre optimal de 3×10^{10}. D'abord chez la Souris, MATHE a donc procédé à l'emploi de plusieurs donneurs, et il a constaté que même si le nombre des cellules nucléées reste le même, le fait de la multiplicité de la provenance améliore le résultat : la fréquence de la restauration myéloïde est presqu'aussi bonne avec des donneurs multiples, que celle obtenue avec le donneur le plus proche par l'histocompatibilité, et nettement supérieure à celle obtenue avec le donneur le plus éloigné par l'histocompatibilité. En utilisant simultanément plusieurs donneurs pour un même receveur, en clinique humaine, la restauration a été excellente et la greffe a connu un plein succès ;

- la troisième cause d'échec relève de la prise de la greffe et du choix du donneur ; or cette cause est déjà supprimée au moins en partie par l'emploi des donneurs multiples. Chez la Souris, en utilisant des donneurs multiples, on constate d'une part que les cellules de tous les donneurs paraissent bien intervenir dans la prolifération précoce responsable de la restauration médullaire, mais d'autre part, que seules les cellules du donneur le plus proche sur le plan de l'histocompatibilité, persistent. Avec les greffes de peau provenant des divers donneurs, on peut étudier, nous l'avons dit plus haut, la tolérance spécifique liée au chimérisme, seuls persistent les greffons cutanés du ou des donneurs les plus proches.

KURNICK en 1959 a fait des constatations analogues chez l'homme. Un sujet qui reçoit une transplantation de mélange de moelle os-

seuse provenant de six donneurs différents, est restauré complètement par l'un d'entre eux seulement, celui qui correspond au donneur que deux tests avaient conduit à considérer comme le plus proche du receveur. Ainsi, lorsqu'à l'organisme on transplante des moelles de provenance multiple, cet organisme sélectionne spontanément la meilleure greffe - ou les meilleures greffes ; celles qui réussiront. Mais on peut augmenter les chances de succès en sélectionnant, avant, l'échantillon médullaire qui aura le plus de chances de réussir la greffe. Le test de Brent et Medawar a des indications limitées, car il consiste en l'injection de leucocytes du receveur au donneur : il est donc exclu si le receveur est leucémique et le donneur sain. En outre, le syndrome secondaire risque d'en être aggravé, puisque l'injection de leucocytes immunise le donneur contre le receveur, la réaction du greffon contre l'hôte va en être aggravée. L'étude des antigènes leucocytaires par les sérums de sujets immunisés par des transfusions sanguines paraît permettre une sélection de donneur ; celui-ci devant être le plus proche du receveur à cet égard. Reste enfin le test d'histocompatibilité par greffons cutanés.

- la quatrième cause d'échec pourrait être l'immunisation croisée par des transfusions antérieures de sang, ce qui s'opposerait à la prise de greffe de cellules hématopoiétiques allogéniques en clinique humaine. Il est apparent que les greffes de moelle osseuse échouent souvent chez les leucémiques ayant eu, avant l'irradiation, des transfusions sanguines, alors que ces mêmes leucémiques irradiés, mais n'ayant pas été au préalable transfusés, voient leurs greffes

de moelle osseuse réussir à peu près constamment. Cette notion a été confirmée expérimentalement, les animaux irradiés et greffés présentant régulièrement un succès, les animaux antérieurement transfusés, irradiés et greffés, présentant régulièrement l'échec de la moelle transfusée. On saura donc dans toute la mesure du possible éviter les transfusions chez des sujets atteints d'affections justiciables de transplantations ultérieures de moelle osseuse.

Cliniquement, le syndrome secondaire se présente selon une association de signes cliniques :
anorexie, nausées, vomissements, diarrhée, perte pondérale, hépatomégalie, érythrodermie desquamative, infections ;
de signes hématologiques : lymphopénie, éosinophilie ;
de signes histologiques : aplasie lymphoïde, aplasie des cryptes intestinales, nécroses, lésions cutanées (hyperkératose, parakératose, acanthose, infiltration cellulaire dermique) ;
signes biochimiques enfin, perturbation des taux de gamma-globulines sériques, de divers enzymes sériques surtout ceux d'origine hépatique.

Lorsque le syndrome secondaire prend en clinique humaine une grande sévérité, la greffe de cellules hématopoiétiques allogéniques n'a pas le délai nécessaire pour devenir active. Or ce syndrome est malheureusement grave chez l'homme. Des essais expérimentaux ont été entrepris pour le réduire: l'irradiation faible des éléments cellulaires avant leur injection, si elle diminue en effet le pouvoir d'induction du syndrome secondaire, affaiblit également le pouvoir de

restauration myéloïde du greffon. La conservation des cellules hématopoiétiques pendant deux heures à 37° dans du tyrode paraît par contre diminuer la fréquence et la gravité du syndrome immunologique tout en respectant le pouvoir de restauration myéloïde de la greffe. Mais la transposition de cet essai expérimental à l'homme a échoué.

L'utilisation des donneurs multiples, qui déjà, nous l'avons vu, favorise le succès de la greffe médullaire, paraît également atténuer ou prévenir le syndrome secondaire. Chez la Souris, les résultats ont été bons, ce qui s'explique par la sélection spontanée que fait le receveur parmi les donneurs, sa préférence allant vers le greffon du donneur le plus proche sur le plan de l'histocompatibilité. Chez l'homme, la méthode des donneurs multiples n'a pas évité l'apparition d'un syndrome secondaire intense, mais que le traitement symptomatique a pu surmonter.

Ainsi, d'essais cliniques en essais cliniques, d'expériences en expériences, la méthode de transplantation de moelle osseuse se modifie, s'améliore, les causes d'échec sont reconnues, et combattues, et les résultats cliniques deviennent de plus en plus encourageants. "D'année en année, les progrès sont évidents" ... (G.MATHE).

-:-

- VI -
CONCLUSIONS

-:-

I - Les transplantations de moelle osseuse ont pour but d'assurer une réanimation hématologique en cas d'aplasie ou d'hypoplasie médullaire :

- dans les insuffisances myéloïdes primitives ou cryptogénétiques,
- dans les formes d'origine toxique, médicamenteuse,
- lors d'irradiations accidentelles,
- dans les insuffisances myéloïdes volontairement provoquées par radiothérapie massive, chimiothérapie intensive, traitant des tumeurs malignes localisées ou diffuses, des hémopathies malignes.

II - La réussite de la greffe exige la suppression des obstacles immunologiques et immunogénétiques qui s'y opposent : la greffe de moelle isogénique, provenant d'un jumeau monozygote, ne pose pas de problème, mais sa réalisation est exceptionnelle.

La moelle allogénique est prélevée chez un ou plusieurs donneurs proches du receveur sur le plan de l'histocompatibilité ; sa greffe exige la quasi-destruction des défenses immunologiques du receveur, par irradiation totale et massive.

La moelle autogène enfin peut assurer une réanimation hématologique protectrice lors de la chimiothérapie anticancéreuse.

III - La technique délicate, nécessite des spécialistes entraînés et une installation appropriée permettant :

- les conditionnements du receveur, spécifiques, non spécifiques, par corticothérapie, irradiation totale à dose léthale, antimitotiques chimiques,

- le choix du donneur, par des examens appropriés,

- l'isolement du receveur en milieu stérile sous U.V. et antibiothérapie correspondant aux éventuels germes isolés.

IV - A côté de succès encourageants, la méthode compte des échecs qui proviennent surtout

- du syndrome secondaire sévère et précoce, précédant la restauration myéloïde,

- de l'insuffisance numérique des cellules nucléées, de la réaction immunologique au niveau du greffon incompatible, du choix des donneurs : ces obstacles paraissant pouvoir être surmontés ou au moins atténués par la technique des donneurs multiples.

V - Méthode rationnelle, qui a déjà à son actif des résultats positifs ; la transplantation de moelle osseuse effectue d'année en année des progrès qui améliorent sa valeur thérapeutique et écartent les uns après les autres les facteurs d'échec. "Et c'est dans cette ouverture de perspectives et de

questions toujours nouvelles, et toujours dynamiques, que consiste l'enchaînement incessant de la recherche et de la découverte".

-:-

Vu :
Le Président :
Signé : Robert ANDRE

Vu :
Le Doyen :
Signé : G. BROUET

Vu et Permis d'Imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris :
Signé : Jean ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

-:-

AMIEL J.L., TENENBAUM R., MERY A.M., MATSUKURA M., MATHE G.
Protection des animaux irradiés par de la moelle osseuse allogénique selon le nombre des cellules.
Revue Fr. Et. Clin. Biol. 1962, 7, p.970.

ANDRE R., DREYFUS B., SALMON Ch.
Incidents et accidents de la transfusion sanguine ; prévention et traitement.
8e Masson éd. Paris 1956.

BEILBY, CADE, JELLIFE, PARKIN, STEWART
Prolonged survival of a bone marrow graft resulting in a blood-group chimera.
Brit. Med. Journ. 1960, I, p.96-98.

BREZIN C., MATSUKURA M., MERY A.M., PAPIERNIK M., SEKIGUGHI M., SEMAN G., SORIEUL S.
La greffe de cellules hématopoiétiques allogéniques.
1 vol. CNRS éd. Paris 1965.

BRIDGES J.M., EDELSTYN, LYONS, NELSON
Toxic marrow failure treated by homograft of foetal hemopoietic tissue.
Lancet 1960, 125, p.629.

CLIFFORD P., CLIFT R.A., DUFF J.K.
Nitrogen-mustard therapy combined with autologous marrow infusion.
Lancet 1961 I p.687.

ESPIE J.
Transfusion et greffe de moelle osseuse. Etat actuel du problème.
Thèse de Paris 1962.

FERNBACH D.J., TRENTIN J.J.
Isologous bone marrow transplantation in identical twin with aplastic anemia.
Proc. 8 th Int.Congr.Haemtol. Tokio 1962, I, p.150-154.

KURNICK N.B.
Autologous and isologous bone marrow storage and infusion in treatment of myelo-suppression.
Transfusion 1962 II p.178.

LOCHTE H.L. jr.
Infusion of marrow in mouse and dog after thio TEPA.
Blood 1963, 21, p.424.

MAC FARLAND W.
Therapy of hypoplastic anemia with bone marrow transplantation.
Arch. Int. Med. 1961, 108, p23.

MANNICK J.A.
Autografts of bone marrow in dogs after lethal total body irradiation.
Blood 1960, 15, p.255.

MATHE G., SCHWARZENBERG L., LARRIEU M.J.
Transfusion de moelle osseuse chez l'homme. Technique.
Le Sang, 1959, 30, p.784.

MATHE G., BERNARD J., SCHWARZENBERG L., LARRIEU M.J., DUTREIX A., DENOIX P.
Essais de traitement de sujets atteints de leucémie aiguë en rémission par irradiation suivie de transfusion de moelle osseuse homologue.
Rev. Fr. Et. Clin. Biol. 1959, 4, p.675.

MATHE G., JAMMET H., PENDIC B., SCHWARZENBERG L., DUPLAN J.F., MAUPIN B., LATARJET R., LARRIEU M.J., KALIC D., DJUKIC Z.
Transfusions et greffe de moelle osseuse homologue chez les humains irradiés à haute dose accidentellement.
Rev. Fr. Et. Clin. Biol. 1959, 4, p.226.

MATHE G., BERNARD J., De VRIES M.J., AMIEL J.L., SURMONT J.
Nouveaux aspects de greffe de moelle osseuse homologue après irradiation totale chez des enfants atteints de leucémie aiguë en rémission. Le problème du syndrome secondaire chez l'homme.
Revue Hématol. 1960, 15, p.115.

MATHE G., AMIEL J.L.
Les réactions immunologiques de greffe.
Presse Méd. 26 sept. 1964, 72, p.2331-2336.

MATHE G., AMIEL J.L.
La greffe. Aspects biologiques et cliniques.
Paris 1962 Masson éd.

MATHE G., AMIEL J.L., SCHWARZENBERG L., CATTAN A., SCHNEIDER M.
Chimérisme hématopoiétique chez l'homme après greffe de moelle osseuse allogénique. Contrôle du syndrome secondaire.

Tolérance spécifique liée au chimérisme. C.R. Acad. Sciences 18 nov. 1963.

MATHE G., AMIEL J.L.
Physiopathologie et contrôle du syndrome secondaire qui complique la greffe de cellules hémopoiétiques.
Rev. Fr. Et. Clin.Biol. 1963, 6, p.537.

MATHE G.
Les greffes de cellules hématopoiétiques et leurs applications.
Presse Méd. 3 oct. 1964, 72, p.2391-2394.

MATHE G., AMIEL J.L., MITSUKURA M., MERY A.M.
Restoration of haematopoietic function in the irradiated mouse by means of allogenic bone marrow grafts from several donors of different strains.
Brit. Journ. Haematol. 1964, 10, p.257.

MATHE G., SCHWARZENBERG L., De VRIES M.J., AMIEL J.L., CATTAN A., SCHNEIDER M., BINET J.L., TUBIANA M., LALANNE C., SCHWARZMANN V., NORDMANN R.
Les divers aspects du syndrome secondaire compliquant les transfusions de moelle osseuse ou de leucocytes allogéniques chez des sujets atteints d'hémopathies malignes.
Journ. Europ. Cancer 1965, I, p.75.

MATHE G., SCHWARZENBERG L., AMIEL J.L., CATTAN A., SCHNEIDER M., LAPEYRAQUE F.
La greffe de moelle osseuse dans le traitement des leucémies.
Presse Méd. 10 avril 1965, 73, p. 1043-1046.

MATHE G., AMIEL J.L., SCHWARZENBERG L.
L'aplasie myélolymphoïde de l'irradiation totale.
1 vol. Gauthier Villars Paris 1965.

MATHE G., SCHWARZENBERG L., SCHNEIDER M., AMIEL J.L., CATTAN A., SCHLUMBERGER J.R., FLAISTER
Chimiothérapie anticancéreuse intensive. Transfusion de moelle osseuse autologue. Chambres exemptes de germes pathogènes.
Presse Méd. 26 nov. 1966, 74, p.2615-2619.

MILLS S.D., KYLE R.A., HALLENBECK G.A., PEASE G.L., CREE I.C.
Bone marrow transplant in an identical twin.
Journ. Am. Med. Assoc. 22 juin 1964, 188, p. 1037-1040.

OLMER J., CASANOVA P., MURATORE R., BATTAGLINI F.P., DELBOY C., GIROLAMI-SANTANDER A.
Agranulocytose gravissime après médication épileptique. Essai de greffe osseuse.
Presse Méd. 9 nov. 1963, 71, p.2257-2258.

PEGG D.E.
Bone marrow transplantation.
8e Londres 1966, 192 pp. Medical Books éd.

PEGG D.E.
Quantitative study of bone marrow grafting : implication for human bone marrow infusion.
Brit. Journ. Cancer sept. 1962, 16, p.400-416.

REDON H., DUPAS M., FASANO J.J.,
SINGIER J.R., NATAF
Chimiothérapie intensive régionale de certains cancers sous protection de transfusion de moelle osseuse autologue.
Presse Méd. 26 nov. 1966, 74, p.2619-2621.

ROBINS M.M., NOYES W.D.
Aplastic anemia treated with bone marrow transfusion from identical twin.
New Engl. J.Med. 16 nov. 1961, 265, p.974-979.

ROSEN F.S.
Further observations of the Swiss type of agamma globulinemia (alymphocytosis); the effect of bone marrow cells.
New Engl. J.Med. 6 janv. 1966, 274, p.18-21.

SCHWARZENBERG L., CATTAN A., SCHNEIDER M.,
SCHLUMBERGER J., AMIEL J.L, MATHE G.
La réanimation hématologique. II. Correction des désordres graves des leucocytes et des immunoglobulines. La greffe de moelle osseuse.
Presse Méd. 23 avril 1966, 74, p.1061-1065.

SCOTT R.B.
Hypoplastic anaemia treated by transfusion of foetal haemopoietic cells.
Brit. Med. Journ. II 25 nov. 1961, p. 1385-1388.

STOLOFF I.L.
Production of antibody by transferred bone marrow. Journ. Immunol. sept. 1960, 85, p.304-308.

THOMAS E.D.
Supra-lethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man.
Journ. Clin. Invest. 1959, 38, p.1709.

THOMAS E.D.
Autogenous recovery of marrow function.
Arch. Int. Med. 1961, 107, p.395.

THOMAS E.D.
Marrow transplants in lethally irradiated dogs : effect of methotrexate on survival of host and homograft.
Transplantation 1963, I, p.571.

THOMAS E.D.
Leukokinetics in dogs given supralethal irradiation with or without marrow graft.
Ann. New York Acad. Sciences 1964, 113, p.1020.

THOMAS E.D., PHILIPS J.H., FINCH C.A.
Recovery from marrow failure following isogenic marrow infusion.
Journ. Am. Med. Assoc. 22 juin 1964, 188, p.1041-1044.

WITTE S.
Die Knochenmarktransfusion.
Munich 1963, 121 pp.

WOJNAR I.
Esthétique et pédagogie.
PWN - Editions scientifiques de Pologne 1963 - Presses Universitaires de France 1963.

-:-

TABLE DES MATIERES

-:-

Pages

I. Introduction 19

II. Aspects immunologiques 29

III. Techniques 39

IV. Indications et résultats 61

V. Causes d'échec. Le syndrome secondaire 81

VI. Conclusions 87

Bibliographie 91

-:-